

La nutria, fuente de infección de la enfermedad de Weil por *Leptospira Bonariensis*

Por BENJAMÍN V. ANCHEZAR, RÓMULO ILLA
y DONATO VIVOLI

A la diaria tarea de rutina que desde el año 1916 realiza la Sección Peste del Instituto Bacteriológico "Malbrán" en la investigación del bacilo de Yersin, se ha agregado en estos últimos años, otra importante y diaria tarea, como es el estudio de la *Leptospira* y la investigación de la leptospirosis en el hombre y en los animales. Con esto está cumpliendo también una misión de gran utilidad sanitaria, indicando la difusión de la leptospirosis entre nosotros, que antes había pasado casi desapercibida. Las descripciones de casos aislados como los de Chiodi⁽¹⁾ sobre el hallazgo de *Leptospira* en ratas grises, y los casos clínicos descriptos por Samovici⁽²⁾ en 1915, por Grapiolo y colaboradores en 1921⁽³⁾, Miyara y colaboradores en 1935⁽⁴⁾ y el caso publicado por Barros en 1935⁽⁵⁾, cuya confirmación del laboratorio fué realizada por el Profesor Schlorsberger en el Consejo de Higiene de Alemania, no indicaban la real difusión del mal, aunque ya Barros al publicar su caso, decía: "No me sorprendería ahora, que, como la fiebre de Malta, encontráramos que la espiroquetosis icterohemorrágica, tenga en el país, como en todas partes, hasta no ha mucho, un rol no calculado en el presente".

Como consecuencia de los extensos y meritorios trabajos realizados en la Sección Peste por los doctores Savino y Rennella, cuenta dicha sección, primero: con un óptimo medio nutritivo, en el que se consigue abundante desarrollo de *Leptospira*, medio que lo obtuvieron después de pacientes estudios sobre los distintos factores de crecimiento, y segundo: con las técnicas precisas para la determinación de los anticuerpos en los sueros sospechosos y el aislamiento de los micro-organismos por siembras e inoculaciones. Se llega así no sólo al diagnóstico exacto de la enfermedad, sino también a la identificación de la especie de *Leptospira* infectante. Les fué posible entonces a los citados investigadores establecer, por primera vez en el país, la real difusión de la enfermedad de Weil, declarada actualmente enfermedad profesional por decreto del 27 de agosto de 1946, y demostrar la importancia que tiene el ganado como depósito de *Leptospira*. Todos los últimos relatos hechos en el país sobre casos

humanos de esta enfermedad, publicados en numerosas revistas, han sido posibles, gracias al diagnóstico de certeza verificado en el laboratorio de la Sección Peste, ya que su cuadro clínico, tan variable, sólo permite un diagnóstico de presunción.

DOS CASOS DE ENFERMEDAD DE WEIL

Con fecha 20 de mayo de 1947, se presentó espontáneamente a la Sección para que se le investigara enfermedad de Weil, el médico veterinario A. R., del laboratorio del Jardín Zoológico de la ciudad de Buenos Aires. Se encontraba convaleciente de una enfermedad iniciada el día 25 del mes anterior, que le había sido diagnosticada como "grippe" por el médico que lo atendió. A pesar de este diagnóstico, y preocupado por el hecho de haberse iniciado su padecimiento un día antes que el de su ayudante de laboratorio, quien había estado muy grave con enfermedad de Weil, diagnosticada como tal en base a los análisis efectuados por nosotros, y teniendo en cuenta el diario contacto que tenía con dicha persona, pedía que se le hiciera también a él la misma investigación. Su cuadro clínico que no había sido tan grave como el de su ayudante, se caracterizó, en efecto, según nuestro interrogatorio retrospectivo, por los síntomas propios de una "grippe": comienzo brusco, malestar general, escalofríos, temperatura 38°C, cefalea, mialgias, artralgias, subictericia conjuntival y cutánea y discreta hematuria. Le quedaba una gran astenia y un tinte subictérico, bien manifiesto especialmente en las conjuntivas. Había sido tratado con penicilina, con lo que según refiere, se mejoró. Buscando anticuerpos específicos en el suero de este enfermo, nos encontramos con una leptospirosis positiva a un título de 1/20.000 para *Leptospira bonariensis*.

Muy distinto fué el cuadro clínico de su ayudante de laboratorio, Sr. A. A., por lo menos en cuanto a la grave alteración del estado general que este enfermo presentó. Empieza su padecimiento el 26 de abril de 1947, bruscamente con temperatura por encima de 38°C, gran postración, alternando con intensa agitación e insomnios. Intensa raquialgia y cefalea, vómitos, gran deshidratación, ictericia cada vez más acentuada hasta adquirir un color bronceado. Coluria sin acolia. Hígado ligeramente grande. Epistaxis. Aparato respiratorio sin alteraciones dignas de consideración. Aparato circulatorio: gran hipotensión y aceleración del pulso. Internado en un Policlínico de la vecina localidad de San Martín en grave estado, desde allí nos enviaron muestra de sangre para que se investigara *Leptospira*, pues habían sospechado enfermedad de Weil. La leptospirosis en este enfermo dió un título de 1/6.000 para *Leptospira bonariensis*. Su tratamiento consistió en penicilina en grandes dosis, suero gluco-

sado, vitamina B, extracto de corteza de suprarrenal, transfusiones, tónicos cardíacos, etc. La enfermedad evolucionó en un mes. Dejamos constancia de nuestro agradecimiento al doctor Mauricio Cusien por habernos facilitado el historial clínico de este enfermo.

Dentro del cuadro clínico tan distinto que presentaron estos enfermos, observamos que los dos tuvieron ictericia, aunque uno con mayor intensidad que el otro, síntomas muy frecuentemente observados en los infectados con *Leptospira bonariensis* e icterohemorrágica, y muy poco frecuente en la leptospirosis por *Leptospira suis* y *canicola*. Lo mismo podemos decir del signo hemorragia que fué bajo forma de epistaxis en uno, y de ligera hematuria en el otro. Es decir, que los enfermos presentaron el síndrome clásico de la enfermedad de Weil, particularidad que según Savino y Rennella presentan las infecciones humanas originadas por la *Leptospira bonariensis*.

MÉTODO DE DIAGNÓSTICO

Hemos seguido en estos dos enfermos el procedimiento que se emplea en la sección con todos los casos sospechosos que diariamente se investigan, es decir, buscar, como primera medida, los anticuerpos leptospirolíticos en la sangre circulante. Para esto ponemos distintas diluciones del suero del enfermo en solución de ClNa al 0,85 %, frente a igual volumen de un rico cultivo de *Leptospira*. Primero probamos con una dilución de orientación al 1/50, y en el caso de ser positiva, lo hacemos con diluciones cada vez mayores. Después de 24 horas de permanencia de la mezcla a 30°C, podemos establecer claramente la existencia de los anticuerpos específicos, observando a fondo oscuro dos fenómenos, uno de lisis, el más importante, y el otro de aglutinación. Con el primero se nota el campo más oscuro al desaparecer por la lisis los reflejos brillantes dados por las *Leptospiras*, y con el fenómeno de aglutinación notamos típicas formas globosas formadas por *Leptospiras*. Hacemos el estudio comparativo con tubos testigos en los cuales observamos el campo lleno de *Leptospiras* por haberse puesto, en vez de suero del enfermo, solución fisiológica frente al cultivo. Cada suero lo estudiamos en presencia de 4 cepas de distinta constitución antigénica, que son: La *icterohemorrhagiae* aislada del hombre, la *bonariensis*, *canicola* y *suis*, aisladas respectivamente de la rata, perro y cerdo por Savino y Rennella. Todas estas cepas se conservan por pasajes periódicos en el óptimo medio nutritivo al que ya nos hemos referido, estudiado por estos autores. Este medio está compuesto por las siguientes sustancias minerales: PO₄HK, ClNa, SO₂Mg, Cl₂CA, en agua destilada, al que se le agrega suero de oveja esterilizado por filtración, hematina, autolizado de levadura, e hidrolizado de caseína.

Se explica la diferencia de títulos leptospirolíticos entre estos enfermos, mucho menos elevado en el que había estado grave, porque en éste se nos remitió la sangre en los primeros días de su enfermedad, antes de que pudieran formarse cantidades estimables de anticuerpos, en cambio, en el otro se le practicó el examen en plena convalecencia.

Por razones ajenas a nuestra voluntad, no hicimos las pruebas para aislar *Leptospira* de estos enfermos, pero ante la presencia de dos casos de enfermedad de Weil, producidos por la misma especie de *Leptospira*, como nos reveló el estudio de los anticuerpos, y ante el hecho de trabajar los dos en el mismo laboratorio del Jardín Zoológico en donde tratan distintas clases de animales enfermos, resolvimos trasladarnos a dicho establecimiento y orientarnos en el terreno sobre la posible fuente de infección.

ANIMALES CONOCIDOS COMO DEPÓSITO DE LEPTOSPIRA

Son numerosos los roedores y otras clases de animales de los cuales se ha podido aislar *Leptospira*. Entre ellos se encuentra en la clase de los mamíferos: el murciélago, perro, gato, vacuno, caballo y cerdo. En el orden de los roedores se encontró en una serie de especies, entre otras: el *R. norvegicus*, *R. rattus*, *R. alexandrinus*, *R. rattus concolor*, *R. rattus brevicaudatus*, *Apodemus Speciosus*, *Micotus Montebellois*, etc.

En nuestro país, Edmée Chiodi en 1934⁽¹⁾, aísla por primera vez *Leptospira* de ratas grises procedentes de distintos galpones del puerto de Buenos Aires y de Rosario. Aunque le llamó *Leptospira icterohaemorrhagiae*, término genérico en ese entonces, por carecer de los medios necesarios, no estableció en realidad, la especie de la *Leptospira* aislada.

Savino y Anchezar (1942)⁽⁶⁾ aíslan también de las ratas grises del puerto de Buenos Aires, estableciendo la proporción del 12.5 % de infectadas, sin establecer tampoco la especie de *Leptospira* infectante.

Savino y Rennella (1943)⁽⁷⁾ aíslan cepas de ratas grises de la ciudad de Buenos Aires, y establecen por los resultados de la absorción de leptospirolisinas, que no pertenecen a la denominada *Leptospira icterohaemorrhagiae* y le llaman *Leptospira bonariensis*.

LA NUTRIA (MIOCASTOR-COYPUS)

A la nómina de animales conocidos como depósitos de *Leptospira*, tanto en nuestro país como en el extranjero, debemos agregar la nutria.

Dejamos constancia de nuestro agradecimiento a la gentileza y eficaz colaboración en la orientación de nuestras investigaciones recibidas del señor Director del Jardín Zoológico, Mario A. Perón y del Jefe del laboratorio, doctor Alberto M. Grosso. Sin esa ayuda nos hubiera sido tarea ímproba llegar a la fuente del mal.

Hicimos los exámenes de laboratorio con resultado negativo en zorros comunes, zorros de campo, monos, gatos, ratas blancas y en tres *R. rattus*. Al encarar la investigación en las nutrias se tuvo en cuenta lo siguiente: 1º Los técnicos que se enfermaron habían tratado días antes a varias nutrias por notarlas enfermas; 2º Que de los alrededores invaden al Jardín Zoológico, en donde encuentran abundante alimento, una gran cantidad de ratas, que convivían con las nutrias.

La nutria es un animal de la clase de los mamíferos, del orden de los roedores y perteneciente a la especie denominada *Myocastor-coypus*. Nuestro Jardín Zoológico contaba con un número de 150 a 200 ejemplares, las que procreaban normalmente. Hacía años que no habían entrado nuevas nutrias. Se alojaban en un estanque de material, que mide alrededor de 40 mts. de diámetro (Figs. 1 y 2). Este estanque está rodeado en todo su perímetro por una playa de arena fina de unos 4 mts. de ancho. En el mismo centro se encuentra un elevado islote revestido desde su base hasta la parte media de material, en cuyos costados se habían hecho aberturas de 25 x 25 cms. con el objeto de que las nutrias pudiesen cavar sus cuevas. Justamente, las cuevas hechas por las nutrias en el centro del islote, facilitó el albergue de gran cantidad de ratas. En las demás partes del Jardín Zoológico, las ratas que existen son pocas, porque el personal, con todo celo, las combate diariamente mediante sulfuro de carbono y gases de arsénico y azufre, pero en este islote, la extinción de las ratas, pese a la preocupación del personal, se hacía imposible, pues no se podía combatir las con la eficacia debida, porque se corría el riesgo de matar las nutrias. Justo es reconocer, por otra parte, que esta falla fué advertida por las autoridades técnicas del establecimiento realizando una modificación de dicho islote.

El hecho de haber comprobado la convivencia de las nutrias con las ratas, y dado que estas últimas pueden ser portadoras de *Leptospira bonariensis*, como lo han demostrado Savino y Rennella, sospechamos que las nutrias hayan sido infectadas por las ratas.

Hubiéramos deseado realizar las investigaciones en mayor número de ratas, pero no nos fué posible por el hecho de que las medidas profilácticas tomadas por las autoridades a raíz de nuestras primeras comprobaciones en las nutrias, exterminaron aquellos roedores.

MATERIAL Y MÉTODO DE DIAGNÓSTICO

Hicimos primero la investigación sobre 6 nutrias remitidas vivas al Instituto. Siguiendo el mismo método ya indicado para los casos humanos, buscamos leptospirosis en el suero de la sangre obtenida de estos animales por punción cardíaca. Para esta operación un ayudante la contenía a la nutria fuertemente por medio de una pescueza construída a propósito, consistente en un fuerte mango de madera que termina en un anillo y en cuyo costado va fijo el extremo de una lonja de cuero que al pasar por el anillo forma un lazo que lo sostiene fuertemente del cuello al animal. El mismo ayudante con la otra mano lo tomaba de la cola y lo afirmaba con el dorso sobre la mesa. Manteniéndole, otro ayudante, las patas delanteras, el animal quedaba indefenso permitiéndonos depilar y aseptisar la región precárdiaca y luego hacer la punción sin peligro de su ataque. En esta forma hemos realizado rápidamente la punción cardíaca a 26 nutrias.

En las seis primeras nutrias de prueba nos dió leptospirosis positiva para *Leptospira bonariensis* como se consigna detalladamente en el Cuadro 1.

CUADRO 1
ENSAYO DE LEPTOSPIROSIS, DILUCIÓN DE SUERO AL 1/50

CEPAS	Nutria N.º 1	Nutria N.º 2	Nutria N.º 3	Nutria N.º 4	Nutria N.º 5	Nutria N.º 6
<i>L. icterohemorrhagiae</i>	+	—	+	++	++	++
<i>L. bonariensis</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>L. canicola</i>	—	—	—	—	—	—
<i>L. suis</i>	—	—	—	—	—	—

Las pequeñas leptospirosis de grupos que observamos frente a la cepa *icterohaemorrhagiae*, no fué mayor de 1/50, en cambio los títulos obtenidos frente a la cepa *bonariensis* variaron entre 1/250 a 1/6.000, como podemos apreciarlo en el Cuadro 2.

CUADRO 2
TITULACION FINAL FRENTE A *L. BONARIENSIS*

NUTRIA	1/250	1/1.250	1/6.000	1/12.000
N.º 1	+++	+++	±	—
N.º 2	+++	+++	—	—
N.º 3	+++	+++	—	—
N.º 4	+++	+++	+++	—
N.º 5	+++	+++	—	—
N.º 6	+++	—	—	—

Ante estas primeras comprobaciones y mientras se seguían las investigaciones tratando de aislar la *Leptospira* infectante, las autoridades del Jardín Zoológico resolvieron, con muy buen criterio, eliminar todas las nutrias allí existentes y proceder a la desinfección del estanque con dicresol y cloro. Previo a esto nos fueron remitidas veinte nutrias vivas, máxima cantidad que podíamos recibir de acuerdo a la capacidad de las jaulas que contábamos en nuestro Instituto.

No creemos necesario detallar el título leptospirolítico de todas las nutrias restantes, sólo diremos que, como las seis primeras, variaron entre 1/250 a 1/6.000, salvo tres cuyo título fué 1/50. Desde luego que todos estos títulos fueron para la *Leptospira bonariensis*, con ligera comunidad antigénica para la *L. icterohaemorrhagiae*.

Un hecho digno de mención es la leptospirolisis negativa encontrada en una sola nutria que nos fué remitida muerta al Instituto. En averiguaciones posteriores nos informaron que justamente esa nutria no pertenecía al estanque en donde se encontraban las otras, sino que andaba suelta por los jardines.

AISLAMIENTO DE LEPTOSPIRA

Después de comprobar la existencia de anticuerpos por la leptospirolisis, sacrificamos 21 nutrias con cloroformo. Las cinco restantes murieron espontáneamente, y como presentaran cierto grado de putrefacción, creímos oportuno no utilizarlas para las investigaciones.

Inmediatamente de haberlas sacrificado se hizo tomas de riñón, hígado y sangre de corazón en condiciones de rigurosa asepsia. Para esto, fijando el animal en decúbito dorsal, en una bandeja grande, esterilizamos la región quemando los pelos con mechero de Bunsen y limpiando luego toda la superficie con alcohol iodado. Liberada la piel con instrumental estéril, abrimos la cavidad abdominal y recogíamos material de hígado y riñón punzando con pipetas Pasteur, después de quemar con espátula candente la superficie de dichos órganos. Este material lo sembrábamos en el medio Savino y Rennella y lo incubábamos en la estufa a 30°C. Luego, tomando un trozo de dichos órganos lo triturábamos inoculándolo suspendido en solución fisiológica a dos caviás, por vía peritoneal. Con este material hicimos también observación a fondo oscuro. Por último, abriendo la cavidad torácica recogíamos para la siembra sangre de corazón. En el examen a fondo oscuro hecho directamente con el material de hígado y riñón, no pudimos observar *Leptospira* en ninguna de las nutrias. La observación a fondo oscuro de las siembras, la hacíamos después de los 15 días de incubación. Pese a la rigurosa asepsia ya

descripta con que tomábamos el material para la siembra, se nos infectaron gran número de cultivos, especialmente los sembrados con material de riñón. Con todo, la primera observación de *Leptospira* la obtuvimos a los 25 días de una siembra de riñón, en donde, al lado de numerosas formas típicas, observamos también gérmenes de infección. Para tener pura la cepa, inoculamos 2 cm.³ de dichos cultivos, por vía peritoneal al cavia, y sacrificándolo a los 10 minutos sembramos sangre de corazón, con lo que obtuvimos puros cultivos de *Leptospira*.

El procedimiento seguido con las cavias inoculadas, consistió en tomarles temperatura rectal a partir del quinto día y aquellas que tenían por encima de 40°C, las sacrificábamos con gas de alumbrado, siguiendo con ellas el mismo procedimiento de investigación que hicimos en las nutrias: siembras de corazón, hígado y riñón, observación a fondo oscuro y reinoculaciones con material de estas dos últimas vísceras. Recién en estas reinoculaciones, las cavias presentaron ictericia y hemorragia y dieron *Leptospira* en el examen a fondo oscuro de hígado y riñón, como así también en las siembras. Presentaban al sacrificarlas hemorragia nasal, signo que ya fué observado por uno de nosotros con el doctor Savino.

De todos estos procedimientos empleados podemos concluir diciendo, que las inoculaciones y reinoculaciones al cavia, constituye el método más seguro para el aislamiento de la *Leptospira*.

ANATOMÍA PATOLÓGICA

Material anatómico. El material anatómico que hemos examinado corresponde a 21 nutrias. Desde el punto de vista macroscópico la *Leptospira bonariensis* produce en las nutrias lesiones dominantes en suprarrenales e hígado, y en menor grado, en pulmón, bazo, riñón y ganglios linfáticos.

Estas lesiones consisten en manifestaciones hemorrágicas con destrucción total o parcial del órgano sobre todo en adrenales. En el resto de los órganos, como veremos un poco más adelante, se traducen por lesiones focales en todos ellos, con la particularidad que en ellas domina la hemorragia. Imbibición icterica no hemos observado en ninguna de ellas, como asimismo no hemos visto tampoco hemorragias subcutáneas y de las serosas, constantes y características en la infección experimental del cavia y espontánea del hombre.

Indudablemente que la gravedad y la extensión del proceso es variable, depende del grado de infección y el momento evolutivo en que se le sorprende. La *Leptospira* es fácil ponerla de manifiesto mediante las impregnaciones argénticas conocidas sobre todo en su-

prarrenales, hígado y riñón. Se las puede observar en los espacios libres intercelulares y también dentro de las células como ocurre en el hígado y riñón (Fig. 3).

Adrenales: Se muestran aumentadas de volumen, de color rojo guinda, es blanda y friable. Al corte resume abundante sangre, el parénquima está virtualmente reemplazado por un coágulo sanguíneo. Otras veces la hemorragia está localizada en un sector respetando el resto del órgano.

Histología: Histológicamente se aprecia una hemorragia difusa de la medular con propagación a la cortical. Existen vasos estallados y trombosados, el parénquima está como triturado, la necrosis se extiende a toda la cortical. En aquellos casos de menor gravedad, las lesiones se traducen por focos de hemorragia y necrosis de la medular, con participación de la cortical, zonas de degeneración adiposa más o menos extendidas (Figs. 5, 6 y 7).

Hígado: Grande, de color rojo. Cápsula de Glisson normal. De consistencia aumentada; al corte da abundante sangre roja, en algunos casos se aprecian pequeñas manchas hemorrágicas en parénquima. Vesícula biliar y vías biliares normales.

Histología: El examen microscópico demuestra la presencia de focos hemorrágicos por estallido de la suprahepática y de los sinusoides (Fig. 8). Células hepáticas desorganizadas, dislocadas, disminuidas de volumen. No se observan focos necróticos, como asimismo no existen procesos degenerativos adiposos. Espacios de Kiernan libres de exudado. Canales biliares: normales. No se observan figuras de mitosis del epitelio, ni de las células hepáticas, como ocurre en el cavia. En alguno de los campos se aprecian focos pequeños de infiltración leucocitaria a base de polinucleares y monocitos.

Bazo: Levemente aumentado de volumen. El parénquima se muestra congestionado, con pequeñas manchas de hemorragia, puestas de manifiesto también mediante la histología. Abundante pigmento hemático.

Riñones: Congestivos. Manchas hemorrágicas puntiformes en las papilas. Tumefacción del epitelio de los tubos, con cilindros hialinos en su interior.

Pulmones: Focos de bronconeumonía hemorrágica (Fig. 9).

Miocardio: Focos puntiformes hemorrágicos con disociación de las miofibrillas.

Ganglios linfáticos: Congestión de senos e hilio.

Aparato digestivo normal. Genitales normales.

No se observan manchas de hemorragias subcutáneas ni en las serosas.

No se observa ictericia.

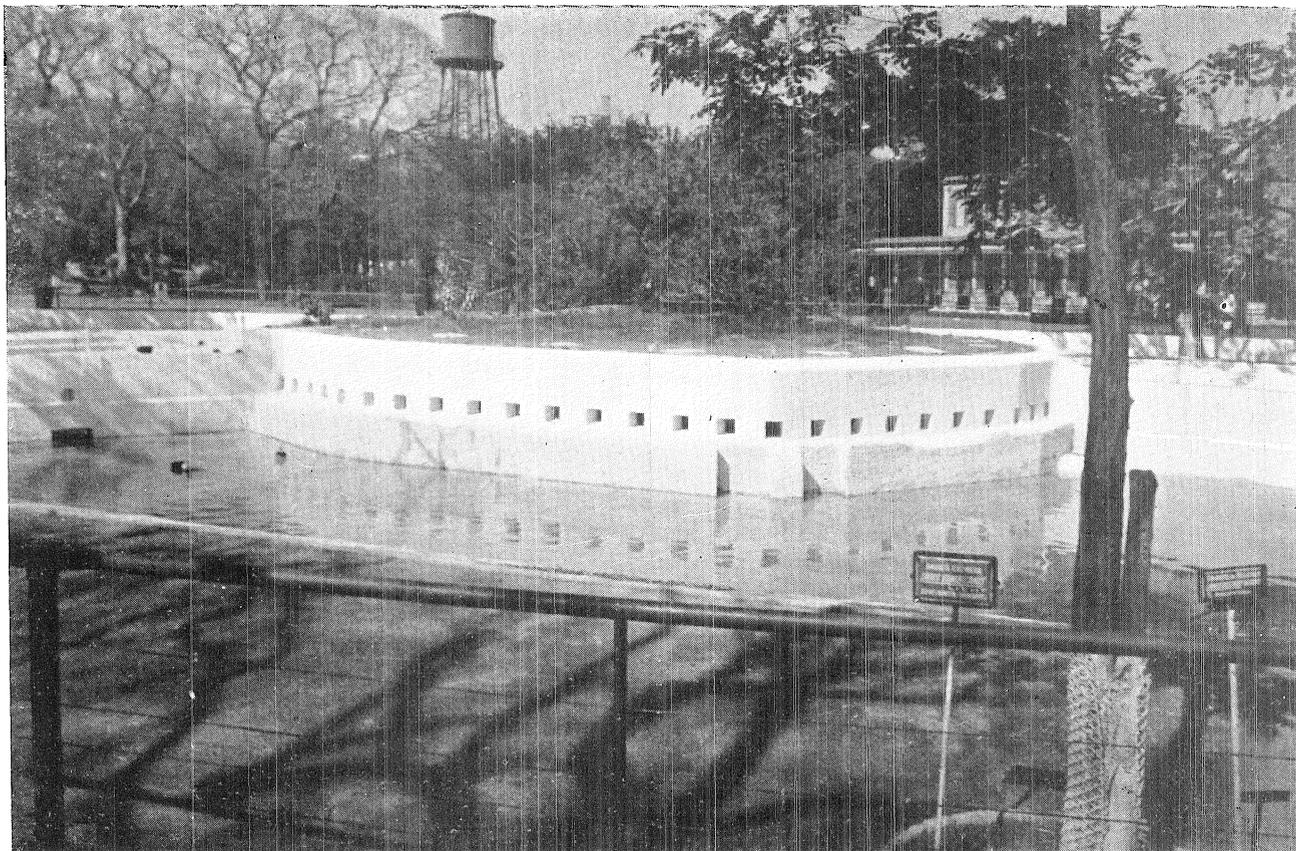


FIG. 1. — Estanque e islote en donde se alojaban las nutrias.

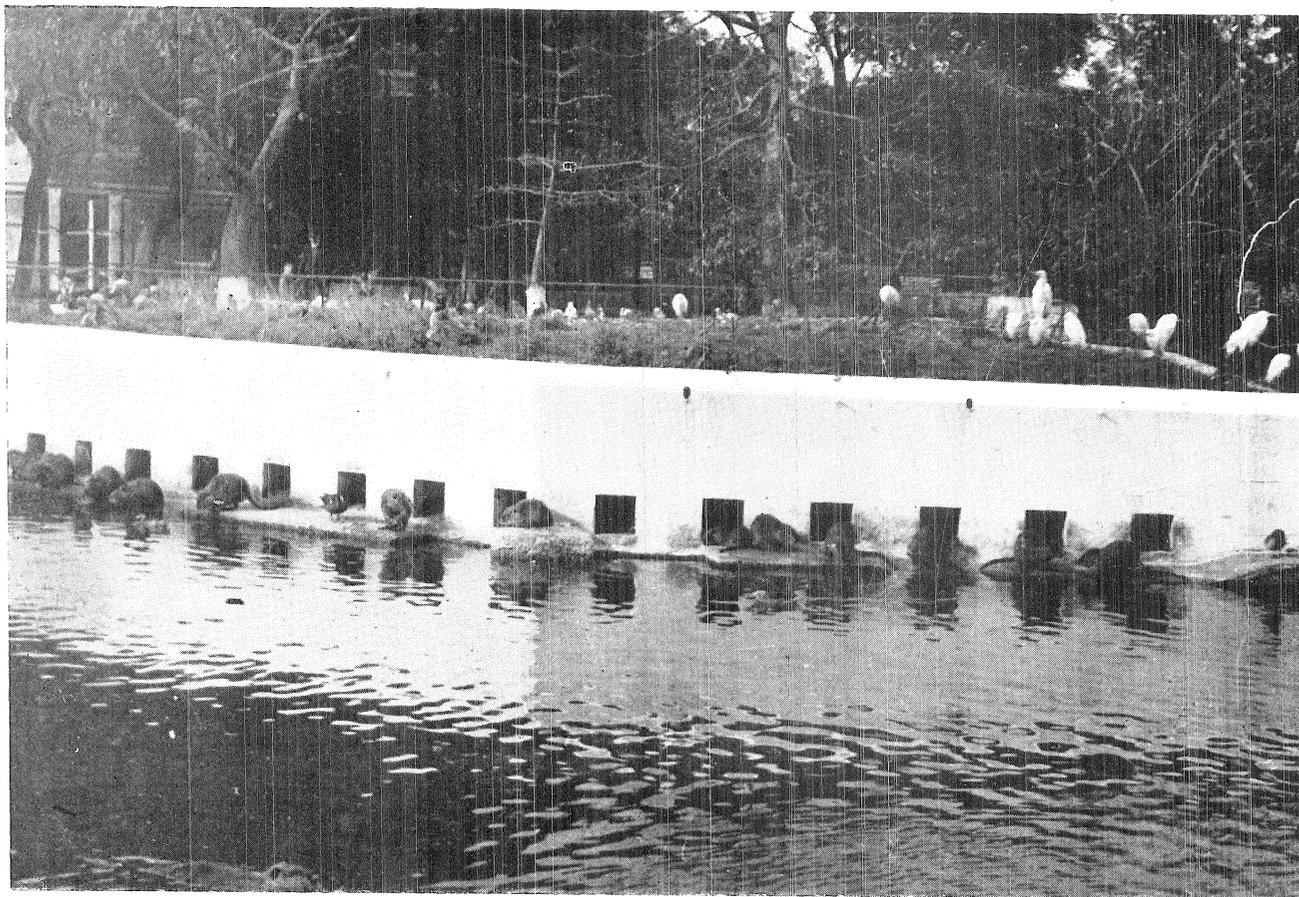


FIG. 2. — Las nutrias frente a sus cuevas en el islote.

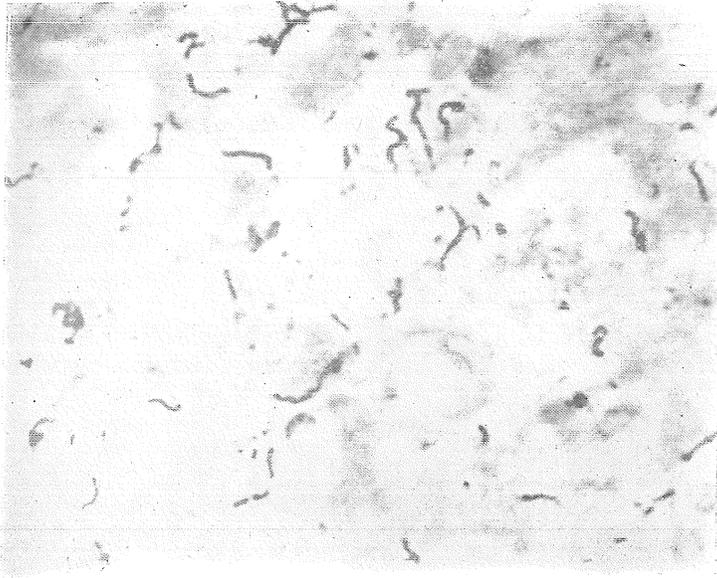


FIG. 3. — *Leptospira bonariensis* en cortes de tejido suprarrenal.



FIG. 4. — *Leptospira*, campo oscuro (cultivo).



FIG. 5. — Hemorragia de zona medular de suprarrenal.

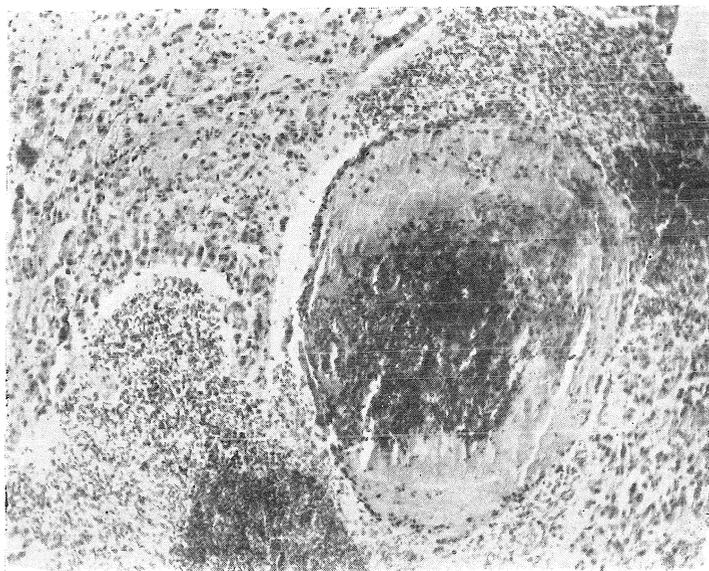


FIG. 6. — Trombosis vascular en medular de suprarrenal.



FIG. 7. — Necrosis de suprarenal.

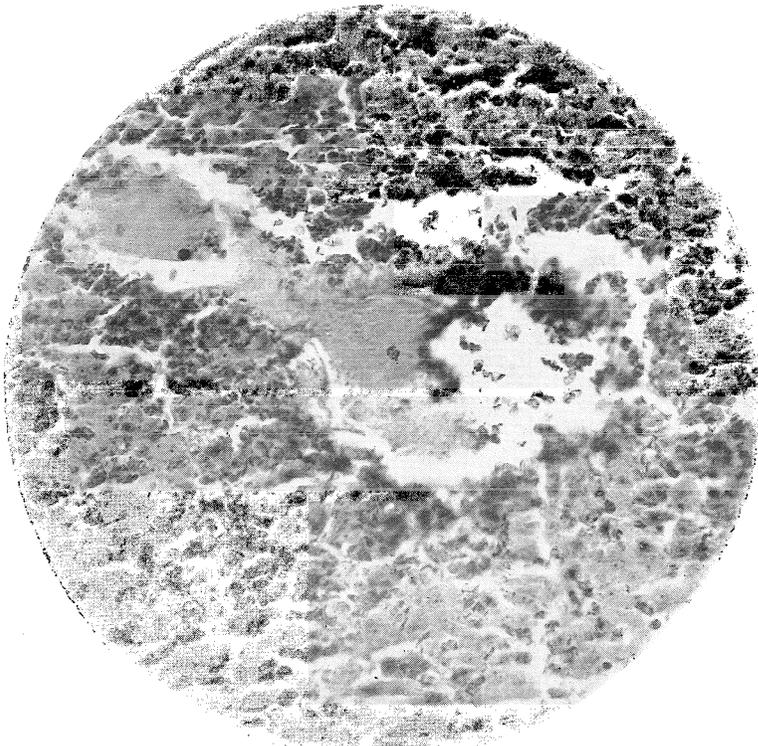


FIG. 8. — Hemorragia de hígado por estallido de la suprahepática y sinusoides.

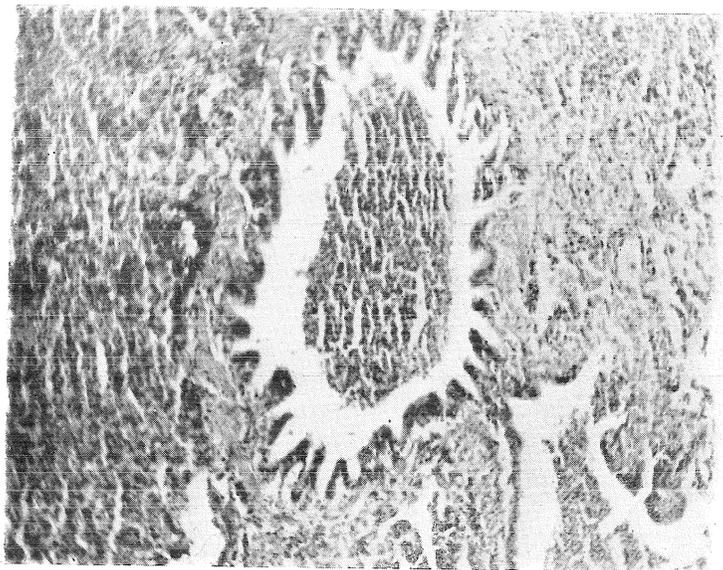


FIG. 9. — Foco de bronconcumonia hemorrágica.

CONCLUSIONES

De lo que exponemos se deducen las siguientes conclusiones:

1º Se aísla por primera vez *Leptospira bonariensis* de nutrias provenientes del Jardín Zoológico de la ciudad de Buenos Aires, y se establece una nueva fuente de infección.

2º Frente a cuadros clínicos febriles no bien definidos, con o sin ictericia o hemorragias, y cuando las condiciones epidemiológicas del medio las sugieren, se debe descartar enfermedad de Weil, mediante las pruebas de laboratorio: leptospirosis y aislamiento del germen.

3º Las lesiones anatomopatológicas dominantes en la nutria se localizan en las adrenales e hígado, sin ictericia ni hemorragias subcutáneas.

4º Tratándose la leptospirosis de una enfermedad profesional, debe vigilarse los establecimientos de procreación de estos animales.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) CHIODI, EDMÉE: "La leptospira icterohaemorrhagiae en las ratas de la Argentina". *Rev. Inst. Bact. del Dep. Nac. de Hig.* Julio 1934. Vol. VI, nº 3, págs. 342-346.
- (2) SAMOVICI, MARCOS: "Caso de ictericia infecciosa (enfermedad de Weil)". *Rev. Méd. de Rosario*. Sept. 1915. Año V, nº 4, pág. 361.
- (3) GRAPIOLO, F., FOSSATI, V., y PALAZZO: "Sobre un caso de espiroquetosis icterohemorrágica". *Rev. Sudamer. de Endoc. Inmunol. y Quimioterapia*. Dic. 15, 1921. Año IV, págs. 411-427.
- (4) MIYARA, S., MARTÍNEZ LEANES, H., y FUNES, E.: "Investigaciones sobre Espiroquetosis icterohemorrágica observados en la Provincia de Mendoza". *Misión de Estudios de Patología Regional Argentina*. 1935. Publicación número 23.
- (5) BARROS, ENRIQUE: "Espiroquetosis icterohemorrágica. *La Prensa Méd. Arg.* 2 de enero de 1935. Año XXII, nº 1, págs. 45-52. 9 de enero de 1935. Año XXII, nº 2, págs. 93-107, y 16 de enero de 1935. Año XXII, nº 3, págs. 140-149.
- (6) SAVINO, E., y ANCHEZAR, B. V.: "Presencia de Leptospiras en las ratas grises de Buenos Aires". *Rev. Inst. Bact. "Dr. Carlos G. Malbrán"*. Dic. 1942. Vol. XI, nº 2, págs. 135-138.
- (7) SAVINO, E., y RENNELLA, E.: "Estudios sobre leptospiras". II. "Leptospira bonariensis (n. sp. ?) aislada de ratas grises de la ciudad de Buenos Aires". *Rev. Inst. Bact. "Dr. Carlos G. Malbrán"*, junio 1944. T. XII, nº 2, págs. 182-189. *Rev. Soc. Arg. de Biol.* Sept. 1943. Vol. XIX, nº 3, págs. 264-270.