Rev. Cub. Pediat. 40: 335-344, May.-Jun. 1968

REGIONAL DE ORIENTE, NORTE, HOLGUIN

Frecuencia del estreptococo beta hemolítico del Grupo A, en exudado faríngeo de la población infantil y adulta examinada en el Laboratorio Provincial Oriente Norte

Por Obdulio Muñoz Bolívar(*)

I.—Introducción

Aunque la causa exacta de la fiebre reumática aún se desconoce, existen una serie de hechos que relacionan esta enfermedad a una previa infección con estreptococos beta hemolíticos del grupo A de Lancefield.

Stellerman, cita tres hipótesis que tratan de explicar la relación existente entre la enfermedad reumática y el estreptococo beta hemolítico:

a) La fiebre reumática se observa con mayor frecuencia en personas hiperinmunizadas al estreptococo del Grupo A, y el promedio de ataque de la fiebre reumática guarda estrecha relación a la intensida y/o frecuencia de la infección a estreptococos y a la virulencia y epidemicidad de la cepa infectante del estreptococo.

b) No es necesario que hayan repetidos ataques a la infección estreptocóccica pero existen ciertos *hospederos* genéticamente predispuestos, los cuales son un escaso porcentaje de la población, que desarrollan fiebre reumática en caso de contraer una infección faríngea a estreptococo con una cepa de virulencia suficiente para producir un fuerte estímulo antigénico o que persista en el hospedero un período suficiente de tiempo.

c) Algunos de los muchos estreptococos del grupo A, pueden sufrir alteracioies genéticas que modifiquen su habilidad de producir proteína N, lo cual conferirá a este tipo de estreptococo en especial, la habilidad de causar fiebre reumática. Por tanto, todos los factores que faciliten la frecuencia de contraer infecciones a estreptococos, constituyen grandes posibilidades de ponerse en contacto con esta variante del germen.

II.—Caracteres del Microorganismo

El estreptococo considerado individualmente, presenta forma esférica o ligeramente ovalada, mide de 0.5 a 1 micra de diámetro. Se agrupan característicamente en cadenas. Son Gram-positivo, aunque hay variedades Gram-negativos (aislados en heces y tejidos animales).

Cultivos: Los estreptococos crecen en medios enriquecidos con sangre, suero o transudados, a un pH. de 7.4 - 7.6 y temperatura óptima de 37°C. en los medios sólidos forman colonias discoidales

(*) Bacteriólogo de la Regional Oriente Norte, Holguín, Cuba.

de 1 a 2 mm. de diámetro. Las cepas capsuladas del Grupo A, a menudo dan dos tipos de colonias unas de aspecto mate y otras lustrosas; las primeras (variante mate) están formadas por microorganismos que elaboran muchas proteínas del tipo M. los cuales son muy virulentos y resistentes a la fagacitosis de los leucocitos. Las colonias lustrosas a menudo son avirulentas y tienden a producir poca proteína del tipo M.

Actualmente, el mejor medio de cultivo para reconocer el estreptococo beta hemolítico del Grupo A, lo constituye el agar con sangre de carnero al 5-7%, el germen produce a las 24 horas de incubación a 37°C. colonias con zona clara de hemólisis, fácilmente diferenciable de la hemólisis verdosa (incompleta) del estreptococo viridaus (Alfa Hemolítico).

III.—Produccion de Toxinas y Enzimas

Producen una gran variedad de sustancias y enzimas extracelulares. Los estreptococos del tipo beta hemolítico contienen el carbohidrato C, específico, el cual se extrae de los microorganismos tratándolos con alcholis o ácidos fuertes. Este carbohidrato purificado se precipita al unirse al suero de los animales inmunizados con estreptococos muertos por el calor, dando reacciones específicas lo cual ha permitido clasificar los estreptococos hemolíticos en grupos, desde la letra A a la O. La mayoría de los estreptococos beta hemolíticos patógenos para el hombre caen dentro del Grupo A.

Además producen fibrinolisina, estreptodonasa, hialurodinasa, toxina eritrogénica y dos tipos de hemolisinas llamadas, estreptolisinas O y S. La estreptolisina O es una proteína con actividad hemolítica, se combina con la antiestreptolisina o sea el anticuerpo formado por el hombre y los animales después de una infección a estreptococos productores de estreptolisina O. La estreptolisina S es tóxica y no es antigénica.

IV.—Valores de Antiestreptolisina O

Debido a la frecuencia de infecciones asintomáticas, se pueden encontrar títulos elevados de antiestreptolisina O en personas sin historia de infección estreptocóccica.

Se ha demostrado en cerca de una tercera parte de enfermos de fiebre reumática, la ausencia total de síntomas anteriores relacionados con faringitis o amigdalitis.

Teniendo en cuenta de que no existe otro antígeno capaz de producir reacciones cruzadas, debemos aceptar infecciones previas a estreptococos.

La toxina theta producida por el clostridium Welchii puede dar reacción cruzada con la streptolisina O.

El conocimiento del nivel de anticuerpos contra estos antígenos del estreptococo, es de gran valor, indicándonos si en el pasado, la persona ha estado en contacto con el germen. Niveles bajos se encuentran a través del segundo año de vida, aumentan rápidamente en la primera década y caen después. Esto guarda relación con el aislamiento del estreptococo del Grupo A en las diferentes edades.

Una Unidad de estreptolisina O, se define como la menor cantidad de filtrado de estreptococos que no presente hemólisis al mezclarse con una Unidad de antiestreptolisina O.

Todd, ha standarizado la unidad de estreptolisina, de modo que 0.5 ml. hemolisen 0.5 ml. de hematíes de conejo en suspensión al 5% colocándolos a 37°C durante una hora, este autor ha

definido la unidad de antiestreptolisina O, como la cantidad mínima de suero necesaria para neutralizar, una dosis dos veces y media superior de estreptolisina O.

Cifras de antiestreptolisina O superior a 100 unidades se consideran elevadas y sugieren infección reciente por estreptococos o bien niveles persistentemente altos de anticuerpos a consecuencia de un contacto menos reciente, pero no indican inmunidad a la infección.

V.—Inmunidad

La resistencia contra las enfermedades estreptocóccicas es del tipo específica; una persona que se ha recuperado de una infección por un estreptococo del grupo A, por ejemplo del tipo 4, presentará cierta resistencia a reinfectarse por el mismo grupo 4, pero no será resistente a ningún otro tipo del mismo grupo A.

La mayor parte de los estreptococos del grupo A, elaboran materiales proteínicos M y T, ambos son antigénicos y estimulan la producción de anticuerpos la sustancia T es más antigénica y da lugar a mayor cantidad de anticuerpos, pero no es tipo específico (los tipos 4, 24, 26, 28 y 46 tienen antígenos T comunes con los tipos 15, 17, 19, 23, 30 y 47).

La proteína M, según hemos señalado, aparecen en grandes cantidades en las colonias mate de tipo virulento. Los anticuerpos M protegen a los animales pasivamente, es específica pero mode-

FIGURA No. 1

EPIDEMIOLOGIA DE LA FIEBRE REUMATICA

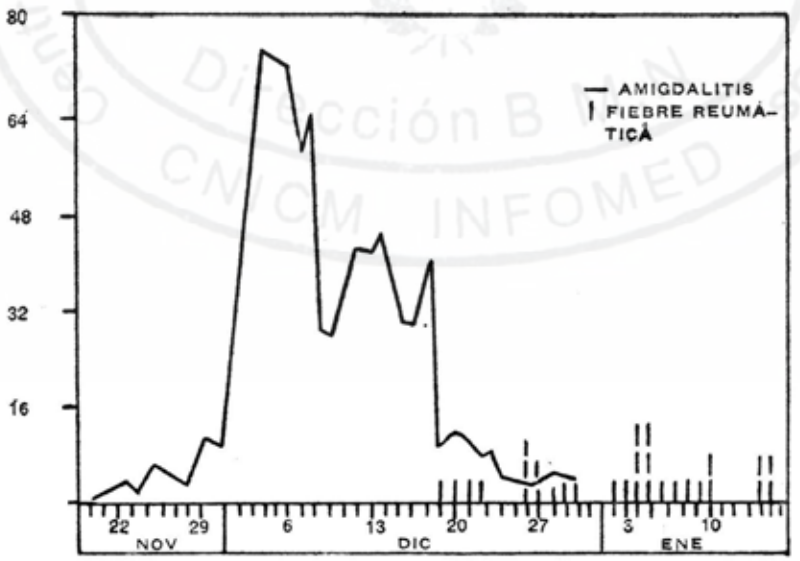

Fig. 1(*)—Durante una grave epidemia de infecciones por estreptococo hemolítico transmitidas por Leche en Dinamarca, en 1926, aparecieron treinta casos de fiebre reumática al final de la epidemia. La escala de la izquierda indica el número diario de casos de amigdalitis.

(*) Tomado de: Bacteriología de Zinsser.

radamente antigénica en la célula intacta y muy poco en solución.

VI.—Epidemiología

La fuente original del estreptococo beta hemolítico del grupo A, es siempre una persona, la cual puede padecer una infeción demostrable o subclínica o tratarse de un portador permanente.

El enfermo o portador sano puede infestar directamente a otras personas por medio de goticas de Flugger, puede contaminar ropa, utensilios diversos, inclusive puede infestar la ubre de una vaca (huésped intermediario), cuya leche a parte de este momento provocará una diseminación epidémica del microorganismo. Se han reportado varios brotes epidémicos provocados por leche contaminada (Fig. No. 1).

Entre el 8-10% de los individuos aparentemente normales llevan el estreptococo beta hemolítico en la garganta. En las aglomeraciones, especialmente en los meses de invierno cuando prevalece el virus del catarro común, la proporción de portadores aumenta hasta el 75%.

Los portadores nasales son los más peligrosos, deben ser estrictamente aislados, ya que expulsan miles de gérmenes al aire, contaminan sus manos, ropas, medio ambiente y otros objetos.

El agrupamiento y tipificación de los estreptococos beta hemolíticos del grupo A de Lancefield, constituye el mejor procedimiento epidemiológico para determinar la transmisión de las infecciones.

VII.—Control

Los procedimientos de control se dirigen contra el medio ambiente contaminado y la fuente humana que le da origen.

a) La leche debe ser pasteurizada.

b) Erradicar los microorganismos de los portadores.

c) Eliminar los portadores de aquellos sitios en los que puedan causar daños, ejemplo: Salas de partos, de maternidad, prematuros.

d) Tratamiento intenso de todas las infecciones estreptocóccicas del tractus respiratorio.

e) Quimioprofilaxis antiestreptocóccicas a toda persona que ya ha padecido de un ataque de fiebre reumática.

f) El empleo de los rayos ultravioleta en salones de operación, constituye el mejor método para eliminar el estreptococo del medio ambiente.

VIII.—Fiebre Reumática Experimental

1. *Por infección de suero.* La inyección de sueros heterólogos dan lugar a alteraciones en la estructura de la sinovia y en el corazón de los animales de prueba, causándoles cambios fibrinoides. De acuerdo con algunos investigadores, estas alteraciones corresponden con las observadas en la fiebre reumática.

   Sin embargo, las lesiones cardíacas observadas en los animales de experimentación a los que se les administraron proteínas extrañas, se caracterizaron por ser del tipo alérgico periarterial o granulomatoso en el endo o en el miocardio, no presentando los típicos cuerpos de Aschoff.

2. *Por estreptococos muertos o sus productos.* Según hemos señalado, los estreptococos del grupo A, contienen propiedades tóxicas. En los

estudios practicados por diversos autores, demuestran que una sola inyección por vía intradérmica del complejo maciomolecular, grupo-específico de polisacáridos y polipéptidos, produce en el conejo una enfermedad modular remitente del tejido conectivo. De los diferentes productos extracelulares, únicamente la proteína y la estreptolisina O ejercen un efecto tóxico directamente sobre el corazón.

Se ha reportado la producción de lesiones del tipo infiltrativo y proliferativo en el corazón de las ratas inyectadas con mezclas de estreptococos del grupo A y músculo cardíaco de rata. Los típicos cuerpos de Aschoff no aparecieron.

En el suero de estos animales se encontraron niveles de anticuerpos cardíacos.

3. *Por estreptococos vivos.* Los intentos de producir la fiebre reumática de los animales de prueba a la infección estreptóccica, por diferentes vías, intranasal, intradérmica o por implantación intraperitoneal ha dado lugar a diferentes resultados en los animales de prueba. Sólo los experimentos de *Murphy* y *Swiff* y los de *Kirschner* y *Llowie*, con conejos infectados repetidamente por vía intracutánea con estreptococos del grupo A, dieron lugar a cambios histológicos en el corazón de algunos animales, incluyendo los cuerpos de Aschoff. Recientemente *Murphy* ha reportado enfermedad valvular en algunos animales probados con estreptococos. La producción de la enfermedad en cada experimento, está relacionado con reactividad a streptolisina O.

4. *Por antígenos especiales.* Se ha comprobado que algunas cepas poseen antígenos de cubierta o de pared, que comparten propiedades antigénicas con el tejido cardíaco. Esto ha sido demostrado con los antisueros obtenidos de conejos inmunizados con estreptococos o con tejido cardíaco. Los anticuerpos cardíacos del suero de pacientes con fiebre reumática aguda no han mostrado propiedades similares de presentar reacciones cruzadas con antígenos de estreptococos. Sin embargo, anticuerpos de estreptococos del suero de enfermos con infección reciente a estreptococos (fiebre reumática y glomérulonefritis) dieron reacción cruzada con tejido cardíaco.

IX.—Material y Métodos

Durante los meses comprendidos desde Enero a Octubre del año 1966, hemos practicado exudado faríngeo a 9729 personas procedentes de: Círculos Infantiles, Policlínicos, Hospital Pediátrico, manipuladores de alimentos y personal de Hospitales. Del total examinado, en 1237 fue aislado el estreptococo beta hemolítico del grupo A. La población examinada se distribuye del siguiente modo:

a) 722 niños supuestamente sanos, procedentes de los Círculos Infantiles de Holguín, comprendidos entre menores de 1 año y siete años.

b) 3317 niños padeciendo diversas afecciones ingresados en el Hospital Pediátrico de Holguín, cuyas edades oscilan entre menores de un año y 7 años.

c) 1008 pacientes procedentes del Policlínico "Dr. Manuel Díaz Legrá" de la ciudad de Holguín, cuyas edades varían entre menores de un año y 14 años.

d) 2346 pesquisajes practicados a personas adultas, supuestamente sanos, procedentes de: manipuladores de alimentos, médicos, enfermeras y personal del Hospital Pediátrico de Holguín.

El material a examinar se recoge con hisopo estéril de la faringe, suspendiendo en 2 ml. de medio B. H. I. Practicando resiembra en agar-sangre-carnero antes de transcurridas dos horas de la toma de la muestra.

El reconocimiento del germen se realiza en base de la producción de hemólisis beta en las placas de agar-sangre, sensibilidad a la bacitracina, solubilidad en bilis. Comprobándose la hemólisis en placa previa conservación en frío de las colonias durante 24 horas y observación microscópica de la lisis de los hematíes.

X.—Resultados

El resultado de estas 9,729 investigaciones se resume en el siguiente cuadro:

CUADRO No. 1

Procedencia	Número de investigaciones practicadas	Positivo a Estreptococos beta hemolítico	% Positivos
Círculos Infantiles ...	722	56	7.76
Pesquisajes	2346	188	8.01
Hospital Pediátrico ..	3317	787	23.72
Policlínico	1008	206	20.43
TOTALES	9729	1237	12.7

XI.—Discusión de los Resultados

El cuadro No. 1, nos demuestra un promedio de 7 - 8% de positivos entre la población aparentemente sana, comprendidos ambos sexos en niños y adultos.

En el mismo cuadro podemos apreciar que el promedio de positividad varía entre el 20 y 23% en los grupos procedentes del Policlínico y Hospital Pediátrico respectivamente, la mayoría de los cuales agrupan afecciones de las vías respiratorias superiores.

El cuadro No. 2, señala las cifras de positividad, los que oscilan desde 3.4% (la más baja) hasta 14.5% (la más alta) entre los grupos procedentes de los Círculos Infantiles y pesquisajes respectivamente, o sea entre los aparentemente normales.

Esos valores fluctúan entre 7.4% y 48.33% en los grupos de pacientes del Hospital Pediátrico y Policlínico de Holguín, según podemos observar, las cifras más altas de exudados positivos corresponden a los meses de Enero y Febrero, mientras que en el mes de Julio nos encontramos con los valores más bajos de positividad.

Las cifras reportadas por nosotros en los grupos de poblaciones estudiadas corresponden con las de autores extranjeros, en países de climas templados donde es frecuente la fiebre reumática.

Los promedios de positividad (Cuadro No. 1) nos dicen que el 12.7% de la población total estudiada, es porta-

LA FRECUENCIA DEL ESTREPTOCOCO POR MESES Y POR GRUPOS DE LA POBLACION ESTUDIADA APARECEN EN CUADRO No. 2

CUADRO No. 2

Procedencia	ENERO Total	positivos	%	FEBRERO Total	positivos	%	MARZO Total	positivos	%	ABRIL Total	positivos	%	MAYO Total	positivos	%
Círculos Infantiles (Holguín) ...	49	5	10.2	55	8	14.5	58	8	13.7	43	3	6.9	103	6	5.8
Pesquisajes (Holguín)	160	23	14.3	173	25	14.4	156	18	11.5	167	14	8.3	292	17	6.2
Hospital Pediátrico (Holguín) ..	260	89	34.2	351	118	33.6	290	96	33.1	328	115	34.9	342	80	23.4
Policlínico Díaz Legrá (Holguín)	60	29	48.3	70	25	37.7	56	17	30.3	102	14	13.7	156	30	19.2
TOTALES	529	146	20.7	649	176	27.1	560	139	25	640	146	22.8	893	133	14.8

CUADRO No. 2
(Continuación)

Procedencia	JUNIO Total	positivos	%	JULIO Total	positivos	%	AGOSTO Total	positivos	%	SEPTIEMBRE Total	positivos	%	OCTUBRE Total	positivos	%
Círculos Infantiles (Holguín) ...	82	5	6	115	4	3.4	75	7	9.3	56	4	7.14	86	6	7
Pesquisajes (Holguín)	273	12	4.4	247	13	5.2	295	15	5	298	21	8.8	345	30	8.7
Hospital Pediátrico (Holguín) ..	367	58	15.8	413	40	9.6	356	47	13.2	307	69	22.5	303	75	24.7
Policlínico Díaz Legrá (Holguín)	78	22	28.1	107	8	7.4	95	8	8.4	161	32	20	123	21	17.8
TOTALES	800	95	11.8	882	65	7.3	821	77	9.4	762	126	16.5	857	132	15.3

dora del estreptococo beta hemolítico del grupo A, en la faringe. El hecho de que muchos de los pacientes procedentes del Policlínico y del Hospital Pediátrico habían recibido o estaban bajo tratamiento con antibióticos, limita en parte el valor de estas investigaciones.

Estimamos necesario determinar prevalencia de fiebre reumática en nuestra población con el fin de establecer la relación epidémica entre el estreptococo y esta enfermedad.

De acuerdo con los datos que nos proporciona este estudio no existen diferencias notables en los hallazgos reportados en los dos grupos de población aparentemente sana, arrojando promedios de 7.76% para los niños de Círculos Infantiles y 8.01% para los pesquisajes realizados entre personas adultas lo cual nos hace pensar en el carácter endémico del estreptococo en la población de Holguín.

El hecho de encontrar cifras de hasta el 48% de positivos en determinada época del año, nos señala la existencia de brotes epidémicos que alcanzan un nivel peligrosamente alto.

XII.—Conclusiones

1. Consideramos en este trabajo la relación existente entre la enfermedad a estreptococos beta hemolíticos del grupo A de *Lancefield* y la existencia de fiebre reumática.
2. Señalamos la frecuencia con que se aisla en nuestro medio el estreptococo en el exudado faríngeo de la población infantil y adulto, agrupándolos de acuerdo con su procedencia por edades, en aparentemente sanos y en enfermos.
3. Planteamos la necesidad de determinar la frecuencia de la fiebre reumática entre nuestra población con el fin de establecer la relación existente entre la infección estreptocóccica y la fiebre reumática.
4. Consideramos necesario estudios bacteriológicos más detallados entre la población escolar, así como practicar pruebas serológicas que nos permitan conocer los niveles de anticuerpos contra los antígenos del estreptococo, en las diferentes edades.

XIII.—Resumen

1. Hacemos un estudio de 9729 exudados faríngeos, correspondientes a cuatro grupos diferentes de población.
2. Uno de estos grupos corresponde a niños aparentemente sanos procedentes de los Círculos Infantiles de Holguín y otro a niños de la misma edad, ingresados por diferentes patologías en el Hospital Pediátrico de Holguín.
3. Entre la población adulta estudiada se encuentran los manipuladores de alimentos, médicos, enfermeras, niñeras y empleados de los Hospitales de Holguín, entre los cuales se realiza una labor de pesquisaje periódica, ninguno de ellos presenta síntomas de enfermedad en el momento de tomar las muestras para el análisis.
4. Un cuarto grupo está formado por pacientes consultados en el Policlínico Integral "Manuel Díaz Legrá", los cuales presentan en su mayoría síntomas de afecciones respiratorias.
5. Los hallazgos obtenidos revelan la existencia de niveles altos (48%) de infecciones estreptocóccicas en determinadas épocas del año, con un promedio total de 12.7% de positividad para todos los grupos estudiados.

6. Se considera la necesidad de establecer estudios más profundos sobre la prevalencia de la enfermedad a estreptococos en las diferentes edades escolares y la fiebre reumática en nuestro medio con el fin de establecer las relaciones epidemiológicas correspondientes.

7. También se plantea la necesidad de realizar estudios serológicos que permitan conocer los valores de anticuerpos existentes en nuestra población.

SUMMARY

1. We have made a study of 9,729 pharyngeal exudates from four different population groups.

2. One of these groups corresponds to apparently heathy children from state nurseries (called here "children's circles") of Holguín and another to children of the some age range admitted for different diseases at the Children's Hospital of Holguín.

3. Among the adult population studied were persons handling food, physicians, nurses, nursery maids and employees of the hospitals of Holguín who are all periodically screened and none of which had shown any symptoms of disease at the moment a sample from each them was taken.

4. A fourth grown consisted of patients seen at the "Manuel Díaz Legrá" general ambulant polyclinic (here called "integral policlinic) and who for their mayority presented symptoms of respiratory disease.

5. Finding showed high prevalence rates (up to 48%) of streptococcal infection in certain periods of the year with a overall average positivity rate of 12.7% for the groups studied.

6. The need has been established for more detailed studies on the prevalence of streptococcal disease at different ages in school children and of rheumatic fever in our country in order to establish the according epidemiological relationships.

7. The need to perform serological studies which may allow us to find out existing antibody titers in our population has been raised.

RESUME

1. Nous avons fait une etude de 2,929 exsudats pharyngiens provénant de quatre groupes de population différents.

2. L'un de ces groupes se composait d'enfants apparement sains qui provenaient des foyers de l'enfance (dits "cercles de l'enfance" à Cuba) et un autre d'enfants dont l'âgé variait entre les mêmes limites que celui des enfants du premier groupe mentionné (de moins d'un an à 7 ans) et qui furent admis à l'Hôpital de l'Enfance d'Holguín.

3. Chez la population adulte se trouvent des manipulateurs d'alimens des médicins des infirmières des bonnes d'enfants et des employés des hôpitaux d'Holguín tous soumis à des enquêtes médicales périodiques et dont aucum ne présentait de symptômes de maladie au moment où l'on prélevait les échantillons pour l'analyse.

4. Un quatrième groupe se composait des malades vus à la clinique pour toutes les maladies ambulatoires, dite "policlinique" (au sens de clinique pour toutes les maladies) intégrale à Cuba "Manuel Díaz Legrá dont la mayorité présentaient des symptômes de maladies respiratoires.

5. Les dannées ont révelé l'existence de proportions élevées (jusqu'au 48%) d'infections streptococciques à certaines époques de l'année avec une moyenne globale de 12.7% de positive pour tous les groupes étudiés.

6. On y a considéré qu'il est nécessaire de faire des études plus approfondies sur la frequence des maladies à streptocoques dans les differentes années de l'âge scolaire (au sens médical et la fievre rhumatismale à Cuba.

   Afin d'établer les rapports epidemiologiques correspondants.

7. On y expose le besoin qu'il est de realiser des études sérologiques pour connaître les taux d'anticorps existant chez notre population.

BIBLIOGRAFIA

1.—Bacteriología de Zinsser, Segunda Edición en Español. Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana.

2.—*Gene H. Stollerman, M. D.* J.A.M.A. Vol. *182*. Núm. 10, Dic. 8, 1962.

3.—Editorials, J.A.M.A., Vol. *181*, Núm. 3, July 21, 1962.

4.—*W. Channing Nicholas, M. D.* and *C. Patton Steele, B. S.; Bismark, N. D.:* Occurrence of Groupable Beta-Hemolitic Streptococci J.A.M.A. Vol. *181*. Núm. 3, July 21, 1962.

5.—*Felix Milgron; Ernest Witebsky, M. D.; Robert Goldstein, and Ulana Loza, M. D.:* Studies on the Rheumatoid and Related Serum Factors; J.A.M.A., Vol. *181*, Num. 6, Aug. 11, 1962.

6.—*Gene H. Stollerman, M. D.:* Treatment and Prevention of Rheumatic Fever and Rheumatic Heart Disease. The Pediatric Clinics of North America. Vol. *11*, Num. 2. May, 1964.

7.—*Kenneth L. Vosti, M. D.:* The Pathogenesis of Posts Treptococal Carditis and Glomerulonefritis, the Pediatric Clinics of N. America. Vol. *49*, Num. 6, Nov., 1965.

8.—*Quinn, R. W.:* Proporción de Vectores de Estreptococos hemolíticos en niños de edad escolar. Revista de Resúmenes, Vol. *2*, Num. 3, Mar., 1966.

9.—*Diego Torres Aldrich, Lilia Jeanyacques y Felipe Suros Lora:* Reumatismo Articular Agudo. Informe estadístico de Abril de 1964 a Abril de 1965 del Hospital Infantil Docente "Juan de la Cruz Martínez Maceira". Revista Cubana de Pediatría. Vol. *38*, Núm. 1, Feb. 28 de 1966.

10.—Documento Geigy, Tablas Científicas, Quinta Edición, Pág. 129.