

Aislamiento de virus rábico en glándulas salivales de murciélagos insectívoros

F. Gury Dohmen⁽¹⁾ & F. Beltrán⁽²⁾

(1) Instituto de Zoonosis Luis Pasteur, Avda. Díaz Vélez 4821, 1405 Buenos Aires, Argentina, Correo electrónico: guryfe@hotmail.com

(2) Instituto de Zoonosis Luis Pasteur, Avda. Díaz Vélez 4821, 1405 Buenos Aires, Argentina, Correo electrónico: ferbelt@hotmail.com

Fecha de recepción: 7 de septiembre de 2007

Fecha de aceptación: 24 de noviembre de 2008

Resumen

En este estudio se determinó la presencia de virus rábico en glándulas salivales, así como su título, caracterización antigénica y grado de exposición por contacto entre animales domésticos y seres humanos. Para ello, se seleccionaron 26 muestras positivas en cerebro, de las cuales el 80% pertenecían a *Tadarida brasiliensis* y correspondían al período 1999-2005. La caracterización antigénica se realizó con un panel de 19 anticuerpos monoclonales dirigidos contra la nucleoproteína viral cedidos por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Atlanta, Estados Unidos de América (EE.UU.). Los resultados mostraron un alto porcentaje de aislamientos en glándulas salivales (76,9%).

Sus títulos promedio se compararon en un lote de muestras positivas de cerebro y glándulas salivales, siendo sus valores 4,75 y 3,81 (expresado como log DL₅₀/0,03 ml) respectivamente. Los virus aislados correspondieron principalmente a las variantes 4 para *T. brasiliensis* y 6 para *Lasiurus cinereus* y *L. borealis* y sus respectivas subvariantes. El grado de exposición en animales domésticos y el hombre fue del 50% durante el período en estudio.

Palabras clave

Caracterización antigénica – Glándula salival – Murciélago insectívoro – Rabia – Título.

Introducción

El último caso de rabia urbana de ciclo terrestre en la ciudad de Buenos Aires se había diagnosticado en 1981. En febrero de 1991, luego de un largo silencio de 25 años sobre la rabia en murciélagos insectívoros, se obtuvo el primer resultado positivo en un espécimen de *Tadarida brasiliensis* que había mordido a una niña del barrio de Barracas de esa capital. El episodio resaltó la importancia que debía prestarse a estas especies y sus posibles contactos con seres humanos y animales domésticos, siendo la mordedura la forma más probable de transmisión del virus de esta especie como reservorio. Desde 1991 hasta 2005, se diagnosticaron aproximadamente 1.500 ejemplares, en su mayoría traídos por el público, o retirados por nuestro personal de los domicilios a pedido

de los vecinos de la ciudad. Hasta la fecha se ha detectado, como mínimo, un caso positivo por año.

La distribución de los murciélagos estudiados por especie fue la siguiente: *T. brasiliensis* – especie dominante – (91,25%), seguida de *Molossus molossus* (5%), *Lasiurus cinereus* y *L. borealis* (3,75%) y el porcentaje de prevalencia cercano al 3% en un total de 45 muestras positivas en cerebro.

Estas observaciones coinciden con los cambios edilicios registrados en esos años, que determinaron la dispersión de *T. brasiliensis* hacia edificios nuevos de gran altura, así como su instalación en colonias poco numerosas – principalmente en los conductos de ventilación y cajas de persianas – y dificultaron la ejecución de un estudio de densidad poblacional.

El mayor número de contactos y de diagnósticos de casos positivos se produjo durante los meses cálidos, en coincidencia con una mayor actividad de las colonias, contrariamente a los meses fríos, que inducen a la hibernación o posibles migraciones.

La presencia de virus rábico en las glándulas salivales de un animal infectado es esencial para la transmisión del virus, así como un indicador del riesgo de su dispersión hacia contactos potenciales. El objetivo de este trabajo consistió en demostrar la presencia de virus rábico en las glándulas salivales de murciélagos insectívoros positivos en cerebro y en medir el grado de exposición de los animales domésticos y el hombre en sus hábitats naturales.

Materiales y métodos

Muestras

Para el presente estudio se seleccionaron 26 muestras positivas y 20 negativas en cerebro (grupo de control) de murciélagos insectívoros. El diagnóstico en el cerebro original se realizó por la técnica de inmunofluorescencia (IF) directa e inoculación en ratones lactantes de uno a tres días de vida.

Las condiciones de remisión de los especímenes fueron dos: muertos sin refrigeración o vivos, eutanasiados según prácticas de laboratorio. Los ejemplares presentaron signos de deshidratación, pelo hirsuto y caquexia, esta última evidenciada por la ausencia de grasa parda interescapular y la disminución del volumen muscular respecto de ejemplares negativos estudiados en la misma estación del año.

Caracterización antigénica

Se realizó por inoculación intracerebral en ratones lactantes de uno a tres días de vida para caracterizar y agrupar las cepas de virus aisladas en los cerebros originales de los murciélagos. Posteriormente, se fijaron improntas de estos aislamientos en acetona a -20°C y se practicó la técnica de IF indirecta en un panel de 19 anticuerpos monoclonales (AM) (5, 12) producido y cedido por el CDC de Atlanta (EE.UU.). Se utilizaron una dilución de trabajo de 10^{-3} y una dilución confirmatoria de 10^{-2} en medio esencial de Eagle, usando cepas de las variantes 2-4-6-ERA y DR19 como testigos en cada tipificación y, también, improntas de cerebro normal como control negativo que luego se colorearon con antigammaglobulina anti-ratón conjugada con isotiocianato de fluoresceína y se observaron en un microscopio de epifluorescencia con luz azul a $40\times$.

El panel de 19 AM estaba compuesto por: C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C15, C16, C17, C18, C19 y C20.

Con este panel se pudieron tipificar las cepas circulantes pertenecientes al serotipo 1 en Argentina (5, 8), de acuerdo a sus patrones antigénicos en: 1, 2, 3, 4, 6 y sus respectivas subvariantes.

Estas corresponden a:

- variante 1: perro y mangosta
- variante 2: perro y animales silvestres
- variante 3: vampiro (*Desmodus rotundus*)
- variante 4: murciélago insectívoro (*T. brasiliensis*)
- variante 6: murciélago insectívoro (*L. cinereus*)

Aislamiento en glándulas salivales

Se realizó en las especies de murciélagos insectívoros *T. brasiliensis* var. *mexicana* y otros, tomando como referencia la descripción anatómica de las glándulas salivales (9), y se disecaron los especímenes.

Técnica

Ubicado el animal en posición decúbito dorsal, se realizó una incisión en piel con bisturí por línea media, desde la sínfisis mandibular hasta el comienzo de la cavidad torácica. Luego se retiró la piel hacia dorsal dejando expuesta la región del cuello. Las glándulas submandibulares aparecieron a la altura media del cuello terminando en un lóbulo libre de color amarillento; a su vez, las glándulas parótidas, de color nacarado o rosado brillante, se encontraban rodeando los conductos auditivos externos, en posición dorsal a las submandibulares (Fig. 1). Se realizaron cortes histológicos de las glándulas submandibulares y parótidas, que se tiñeron con hematoxilina-eosina a fin de confirmar que las estructuras anatómicas correspondían a las mismas. En las submandibulares se observó predominio de acinos mucosos y, en las parótidas, de serosos.

Se extrajeron las mismas con pinza y tijera oftálmica y se pesaron en balanza de precisión. Sus pesos oscilaron entre 30 mg y 40 mg. Seguidamente, bajo condiciones de refrigeración, se realizó una minuciosa homogenización en mortero y se llevó a una dilución de trabajo de 10^{-1} en agua destilada con penicilina sódica, estreptomina y suero normal equino al 2%. Se centrifugó y, tomando del sobrenadante, se inocularon 0,02 ml por vía intracerebral a ratones lactantes de uno a tres días de vida. El aislamiento del virus se realizó en momentos en que los ratones se encontraban en estado comatoso, dentro de un período variable de 8-15 días, y el diagnóstico se confirmó con la técnica de IF directa.



Fig. 1
Vista lateral de la región del cuello de *T. brasiliensis*
(F. Beltrán)

P: parótida
 S: submandibular

Titulación del virus aislado

Partiendo de un mismo peso de glándulas salivales y de cerebro original, se realizaron diluciones seriadas en base 10 y se inocularon 0,03 ml por vía intracerebral a ratones de tres semanas para determinar el título del virus. El mismo fue calculado por el método de Reed y Muench (11) para su posterior interpretación.

Definición de contacto

Se define como contacto a las situaciones en las que hubo exposición a un murciélago, con o sin mordedura. Se considera que es positivo cuando se diagnostica rabia al animal.

Definición de grado de exposición

Para determinar el grado de exposición de los contactos a murciélagos con rabia en sus glándulas salivales, éste se definió como (número de contactos positivos x 100)/número de positivos en glándulas salivales.

Resultados

En el período 1999-2005, el laboratorio recibió 1.300 murciélagos para el diagnóstico de rabia, detectándose 41 casos positivos en condiciones naturales, de los cuales se escogieron 26 (63,4%) muestras para este estudio.

Los aislamientos se efectuaron a partir de las glándulas salivales de ratones lactantes y, en algunos casos como un ejemplar del 2002 y dos del 2003, luego de un primer pasaje. El porcentaje de aislamiento fue del 76,9% (20/26).

Las especies involucradas fueron en su mayoría *T. brasiliensis* (80%), seguida por *L. cinereus* (15%) y *L. borealis* (5%).

Las caracterizaciones antigénicas evidenciaron los patrones de reacción propios de estas especies insectívoras; en *T. brasiliensis* mostraron pertenecer a las variantes 4 y 4a, en *L. cinereus* a la 6 y en *L. borealis* a la 6a, todas comprendidas dentro del serotipo 1 (8). El grado de exposición observado en el período de estudio fue del 50%, lo que significa que de 20 ejemplares positivos en glándulas, 10 estuvieron en condiciones de transmitir la enfermedad (Cuadro I).

Cuadro I
Murciélagos positivos en cerebro. Período 1999-2005

Procesamiento de glándulas salivales	Especie	Variante viral aislada	Contactos	Resultados		
				Resultado	Cantidad	
Positivos	T.b.	4	Felino	Positivos	1	
				Negativos	3	
Positivos	L.c	4a	No hubo	Negativos	5	
				Positivos	T.b.	4
					T.b.	4b
					T.b.	4
					T.b.	4
					T.b.	4
					T.b.	4
Negativos	L.c	4	No hubo	Negativos	2	
				T.b.	6	
Positivos	T.b.	4	No hubo	Positivos	3	
				T.b.	4	
				T.b.	4	
Negativos	0					
Positivos	T.b.	4	Canino	Positivos	3	
				T.b.	4	
				T.b.	4	
				T.b.	4	
				T.b.	4	
				T.b.	4	
Negativos	L.c	6	3 caninos	Negativos	6	
				L.c	6	
				L.b.	6a	
				T.b.	4	
				T.b.	4	
				T.b.	4	
Negativos	0					
Positivos	T.b.	4	Felino	Positivos	2	
				T.b.	4	
Negativos	0					
Positivos	0					
Negativos	1	T.b.	4	No hubo		
Positivos	20			10		
Negativos	6					

T.b.: *Tadarida brasiliensis*
 L.c.: *Lasiurus cinereus*
 L.b.: *Lasiurus borealis*

Como se mencionó anteriormente, no pudieron determinarse los títulos a partir de las glándulas en todos los ejemplares debido a la insuficiente cantidad de tejido o al estado en que se encontraban las muestras.

En un grupo de *T. brasiliensis* y *L. cinereus* se determinaron los títulos en glándulas, que se compararon con los de sus cerebros y, también, se efectuaron sus promedios, observándose un mayor título en cerebros que en glándulas (Cuadro II).

Cuadro II
Comparación de títulos en cerebro y glándulas

Muestras	Especie	Título en cerebro *	Título en glándulas *
1	L.c.	4,50	4,00
1	T.b.	4,17	3,26
1	L.c.	4,50	4,00
1	T.b.	5,24	4,00
1	T.b.	4,50	2,50
5	Títulos promedio:	4,75	3,81

* Título expresado como -Log DL₅₀/0,03 ml

T.b.: *Tadarida brasiliensis*

L.c.: *Lasiurus cinereus*

Discusión y conclusiones

A partir del control de la rabia urbana de ciclo terrestre en la ciudad de Buenos Aires y alrededores, se mostró el rol de los murciélagos insectívoros en la transmisión de la rabia. Las posibilidades de que estas especies transmitan rabia al hombre u otros animales terrestres son bajas. Sin embargo, de los 36 casos de rabia diagnosticados en EE.UU. entre 1980 y 2000 en seres humanos, 21 (58%) se asociaron con variantes de virus de murciélagos (10). En este trabajo, la prevalencia del virus rábico en 1.300 murciélagos insectívoros analizados fue del 3,2%, poniéndose de manifiesto que si bien es bajo, el riesgo potencial de transmisión de estas especies a seres humanos y animales domésticos es real.

La detección de virus rábico en el 76,9% de las glándulas salivales de los murciélagos insectívoros analizados sugiere que estos animales podían transmitir la enfermedad y evidencia que la diseminación ocurriría desde el cerebro hacia las glándulas salivales, como se había demostrado previamente mediante infección experimental (3, 13). La excreción salival de virus rábico también se constató en forma experimental en murciélagos hematófagos sanos (1). En este trabajo no se aisló virus en glándulas salivales del lote de 20 murciélagos negativos; esto sugiere que el virus rábico no estaría presente en animales sanos, aunque sería necesario investigar en una mayor cantidad de especímenes para llegar a una conclusión.

Esta información contrasta con la de otros autores que han detectado *Lyssavirus* más frecuentemente en saliva que en cerebro. Sin embargo, esos resultados no son comparables con este trabajo dado que en dicho estudio se investigó la presencia de otro *Lyssavirus* EBLV1 (serotipo 5) con técnicas moleculares preparadas especialmente y en hisopados orofaríngeos (7).

La cantidad de virus presente en cerebro podría explicar la posibilidad de diseminación a glándulas salivales y otros órganos, así como la duración del período de supervivencia del animal infectado. En el caso de los bovinos, se describió que la baja tasa de aislamiento de virus rábico asociado a murciélagos hematófagos en glándulas salivales, se relacionaba con una alta descarga viral que provocaría la muerte del animal en un corto período de incubación y, en consecuencia, su baja diseminación hacia glándulas salivales (6). En los aislamientos de virus rábico obtenidos en murciélagos insectívoros en cerebros y en glándulas, los títulos no fueron muy elevados por lo que parecería que los especímenes susceptibles a la infección fueron infectados por descargas de título bajo, no pudiéndose descartar la infección por aerosoles que ocasionaría períodos de incubación medianamente largos y, en la mayoría de los casos, permitiría su diseminación hacia las glándulas salivales. Estos datos concuerdan con las observaciones mediante infección experimental en la especie *T. brasiliensis* var. *mexicana* (3).

En el ámbito de la ciudad de Buenos Aires y alrededores, *T. brasiliensis*, que es la especie de mayor impacto debido a su abundancia, representa más del 90% de los especímenes ingresados al Instituto y, sin duda, es la que mayor oportunidad tiene de entrar en contacto con el hombre y los animales domésticos. Si bien en los registros del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur se observó que la actividad de estas especies es menor durante los meses fríos (mayo, junio, julio y agosto), en caso de aumentos de la temperatura media durante algunos días se detectan pequeños picos de aparición de murciélagos, que generalmente tienen buenas reservas de grasa. Por consiguiente, puede considerarse la hipótesis de que la hibernación es el mecanismo más importante de esta especie para sobrevivir al invierno. Su distribución abarca gran parte del territorio, desde las zonas templadas, hasta las regiones frías del sur del país, como la provincia de Chubut (14).

Algunas de las cepas aisladas en el estudio se remitieron al CDC para su caracterización molecular, demostrándose que las provenientes de la ciudad de Buenos Aires tenían un alto grado de homología intrínseca en sus nucleótidos (98%-100%). En el caso de *L. cinereus* los nucleótidos mostraron un 99% de homología con cepas aisladas en Chile y EE.UU. (8).

La rabia de ciclo aéreo en Argentina se ha agrupado en 5 linajes moleculares. El linaje A1 incluye aislamientos pertenecientes a *D. rotundus* provenientes de Brasil y Argentina (provincias de Chaco, Formosa y Corrientes). Los linajes A2, A3, A4 y A5 agrupan aislamientos en murciélagos insectívoros *T. brasiliensis*, *Histiotus* sp., *Lasiurus* sp. y *Myotis* sp. respectivamente. El linaje A2 mostró poseer una similitud nucleotídica del 99,1%, incluyendo un ejemplar de *Eumops patagonicus*, en aislamientos de las provincias de Buenos Aires y de Chubut obtenidos durante 2001 (4). Hasta el momento, no se cuenta con notificaciones de movimientos migratorios de estas especies en el país.

En Argentina se han registrado muy pocos casos de rabia animal asociados a murciélagos insectívoros. Los últimos se diagnosticaron en 2002 en un canino de la ciudad de Córdoba en 2001 (15) y un felino de la zona rural de Pipinas, provincia de Buenos Aires (2), donde sólo se realizan vacunaciones de foco en lugar de campañas anuales de vacunación masivas. En este estudio, el grado de exposición de los contactos (animales o humanos) a murciélagos con rabia en las glándulas salivales mostró que la mitad de ellos estuvo en riesgo de contraer una infección rábica. Sin embargo, hasta la fecha no se han detectado casos de rabia humana o animal por murciélagos en la

ciudad de Buenos Aires. Esto podría explicarse por la baja prevalencia rábica en estas especies y el sostenimiento de programas de prevención y control por parte de las autoridades sanitarias. En tal sentido, el equipo de educación para la salud del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur difunde información a los docentes mediante charlas y cartillas. Se trata de una estrategia para informar a los adultos, a través de sus hijos, sobre la transmisión y las precauciones que deben tomarse en caso de aparición de murciélagos en sus domicilios a efectos de disminuir el número de contactos, así como de divulgar las medidas a seguir en caso de mordedura y la necesidad de mantener vigente la vacunación de las mascotas.

Agradecimientos

A los médicos veterinarios Jorge Grisolia, Liliana Ramayo, Gabriela Postma, Gabriel Cicuttin, Carlos Mena Segura y Alma Palazzolo, así como al Dr. Daniel Cisterna, por el apoyo técnico brindado.

Por último, a la Sra. Claudia Inga, del Centro de Información en Salud (CEDOS).



Rabies virus isolation in the salivary glands of insectivorous bats

F. Gury Dohmen & F. Beltrán

Summary

This study determined the presence of the rabies virus in salivary glands, as well as its titre and antigenic characterisation and the level of exposure to the virus from contact between domestic animals and humans. Twenty-six positive brain samples were selected, 80% of which were from the Brazilian free-tailed bat, *Tadarida brasiliensis*, corresponding to the period 1999-2005. Antigenic characterisation was conducted on a panel of 19 monoclonal antibodies targeting the rabies virus nucleoprotein supplied by the Centers for Disease Control and Prevention in Atlanta in the United States of America. The results revealed a high percentage of isolations in salivary glands (76.9%).

Their average titres were compared in a batch of positive samples of brain and salivary glands, giving values of 4.75 and 3.81 respectively (expressed as log LD₅₀/0.03 ml). The isolated viruses corresponded principally to variant 4 associated with *T. brasiliensis* and variant 6 associated with the hoary bat, *Lasiurus cinereus*, and the red bat, *L. borealis*, and their respective subvariants. The level of exposure in domestic animals and humans was 50% during the period under study.

Keywords

Antigenic characterisation – Salivary gland – Insectivorous bat – Rabies – Titre.



Isolement du virus de la rage dans les glandes salivaires de chauves-souris insectivores

F. Gury Dohmen & F. Beltrán

Résumé

Les auteurs présentent les résultats d'une étude visant à isoler le virus de la rage dans les glandes salivaires afin de déterminer son titrage, de caractériser l'antigène et d'évaluer le taux d'exposition au virus par contact chez les animaux domestiques et l'homme. L'étude a porté sur 26 prélèvements cérébraux positifs réalisés entre 1999 et 2005, dont 80 % étaient issus de *Tadarida brasiliensis*. Un pool de 19 anticorps monoclonaux dirigés contre la nucléocapside virale, fournis par le Centers for Disease Control and Prevention (CDC) d'Atlanta, États-Unis d'Amérique a été utilisé pour la caractérisation de l'antigène. Le taux d'isolement du virus dans les glandes salivaires s'est avéré élevé (76,9 %).

Une comparaison des titres présents dans un lot d'échantillons cérébraux et de glandes salivaires, tous positifs, a été réalisée ; les valeurs obtenues, exprimées en log DL₅₀/0,03 ml) étaient respectivement de 4,75 et de 3,81. La grande majorité des virus isolés appartenaient aux sous-types du génotype 4, associé à *T. brasiliensis*, et du génotype 6, associé à *Lasiurus cinereus* et à *L. borealis*. Le taux d'exposition des animaux domestiques et de l'homme pendant la période couverte par l'étude était de 50 %.

Mots-clés

Caractérisation antigénique – Chauve-souris insectivore – Glande salivaire – Rage – Titrage.



Bibliografía

1. Aguilar-Setien A., Loza-Rubio E., Salas-Rojas M., Brisseau N., Cliquet F., Pastoret P.-P., Rojas-Dotor S., Tesoro E. & Kretschmer R. (2005). – Salivary excretion of rabies virus by healthy vampire bats. *Epidemiol. Infect.*, **133** (3), 517-522.
2. Amasino C.F., Gury Dohmen F.E., De Gaetano J., Mena Segura C. & Palazzolo A. (2003). – Rabia debida a virus de murciélago en un gato de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **22** (3), 1021-1027.
3. Baer G.M. (1991). – Rabies in nonhematophagous bats. *En The Natural History of Rabies* (Coordinador: G.M Baer), 2.^a edición, CRC Press. Boca Raton, Florida, EE.UU., 341-366.
4. Cisterna D., Bonaventura R., Caillou S., Pozo O., Andreau M.L., Dalla Fontana L., Echegoyen C., de Mattos C., Russo S., Novaro L., Elberger D. & Freire M.C. (2005). – Antigenic and molecular characterization of rabies virus in Argentina. *Virus Res.*, **109**, 139-147.
5. Delpietro H., Gury Dohmen F.E., Larghi O.P., Mena Segura C. & Abramo L. (1997). – Monoclonal antibody characterization of rabies virus strains isolated in the River Plate Basin. *J. vet. Med.*, **B44**, 477-483.
6. Delpietro H.A., Larghi O.P. & Russo R.G. (2001). – Virus isolation from saliva and salivary glands of cattle naturally infected with paralytic rabies. *Prev. vet. Med.*, **48**, 223-228.
7. Echevarría J.E., Avellón A., Juste J., Vera M. & Ibáñez C. (2001). – Screening of active Lyssavirus infection in wild bat populations by viral RNA detection on oropharyngeal swabs. *J. clin. Microbiol.*, **39**, 3678-3683.
8. Gury Dohmen F.E. & Mena Segura C. (2004). – Rabia en murciélagos insectívoros de la Argentina. *In Temas de Zoonosis II*, Asociación Argentina de Zoonosis (Coordinadores: R. Cacchione, R. Durlachy & O.P. Larghi), 123-129.
9. Krutzsch P.H. & Sulkin S.E. (1959). – The anatomical distribution of the interscapular and parotid glands of the insectivorous bats *Tadarida*, *Myotis* and *Pipistrellus*. *Anatomical Rec.*, **134**, 397-409.
10. Messenger S.L., Smith J.S. & Rupprecht C.E. (2002). – Emerging epidemiology of bat-associated cryptic cases of rabies in humans in the United States. *Clin. infect. Dis.*, **35** (6), 738-747.

11. Reed L.J. & Muench H. (1938). – A simple method of estimating 50 percent end point. *Am. J. Hyg.*, **27**, 493-497.
 12. Smith J.S. (1988). – Monoclonal antibody studies of rabies in insectivorous bats of the United States. *Rev. infect. Dis.*, **10**, 637-634.
 13. Sulkin S.E., Krutzsch P.H., Allen R. & Wallis C. (1959). – Studies on the pathogenesis of rabies in insectivorous bats. *J. experim. Med.*, **110** (3), 369-388.
 14. Vaccaro O.B. & Varela E.A. (2001). – Quirópteros de la ciudad de Buenos Aires y de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev. Mus. argent. Cienc. nat.*, **3** (2), 181-193.
 15. Zallocco J.C. (2003). – En Córdoba los murciélagos transmiten más rabia que los perros. *La Voz del Interior* (31 de enero de 2003).
-

