

INFECCIÓN POR *NEOSPORA CANINUM* EN UN PERRO: DESCRIPCIÓN DE UN CASO CLÍNICO.

J. Ribó Ruiz, J.M^a Sáez Cabello. Clínica Veterinaria Albeitar.
P^o Olmos, 32 bajo.
20016 San Sebastián (Guipúzcoa).

RESUMEN.

Se describe el caso clínico de un perro Pastor vasco macho, de un año y medio de edad, que comienza con una sintomatología poco definida y acaba derivando en unas semanas en un cuadro de tipo neurológico.

La titulación serológica revela infección activa causada por *Neospora caninum*.

Se discute acerca del diagnóstico, pronóstico y tratamiento.

Palabras clave: *Neospora caninum*; Enfermedad neuromuscular; Perro.

ABSTRACT.

It is described the clinical case of a Basque shepherd dog of one and a half years old, with unspecific symptoms, that finally presents a neurological disease a few weeks after.

The antibody titre was positive and shows an active infection caused by *Neospora caninum*.

It is discussed about diagnosis, prognosis and treatment.

Key words: *Neospora caninum*; Neuromuscular disease; Dog.

INTRODUCCIÓN.

Filogenia: (11, 14, 16, 21, 25)

Subreino: Protozoa
Phylum: Apicomplexa
Subclase: Coccidia (Coccidiasina)
Familia: Sarcocystidae
Género: *Neospora*
Especie: *N. caninum*

N. caninum es un parásito protozoario descubierto recientemente y por primera vez en unos cachorros de Boxer en Noruega (Bjerkas, 1984) y aislado e identificado definitivamente en 1988 (Dubey *et al*) (7, 13, 17, 26). Es causante de graves lesiones en el perro, fundamentalmente de tipo neuromuscular, y de abortos y muerte neonatal en bovinos, aunque afecta también a especies como el caballo y otros rumiantes (1, 2, 4, 10, 16, 20, 21, 27, 39).

Experimentalmente se ha comprobado su patogenicidad en otras especies (ratones, aves, gatos y primates) (1, 3, 25, 31, 33, 40).

Filogénicamente muy cercano a *Toxoplasma gondii*, y erróneamente diagnosticado como tal en muchas ocasiones antes de su identificación (6, 7, 11, 12, 15-17, 21, 23), ambos pueden ser diferenciados tanto en su ultraestruc-

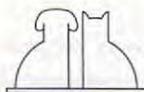
tura como en su comportamiento inmunológico (1, 4, 7, 13, 17, 26). Por tanto, no se dan pruebas cruzadas en las titulaciones serológicas y de L.C.R., al menos utilizando la técnica de I.F.I. (inmunofluorescencia indirecta), considerada específica para el diagnóstico de neosporosis en animales (7, 8, 13, 26).

CASO CLÍNICO.

Jai, un perro macho de raza Pastor vasco, de año y medio de edad, se presenta en la consulta con un cuadro de decaimiento, tristeza y anorexia desde hace siete días, correctamente vacunado y desparasitado en otro centro hace un año.

En la exploración clínica presenta resistencia y dolor a la palpación abdominal, temperatura de 39,7°C e impactación fecal, frecuencia respiratoria y cardíaca normales. El resto de la exploración (incluida la neurológica) también fue normal, perfiles hematológico y bioquímico, incluyendo también un examen parasitológico de heces, fueron normales, por lo que se trata al animal sintomatológicamente con laxantes, dieta y antibiótico de cobertura (amoxicilina-ácido clavulánico).

A los 10 días el animal vuelve porque el



cuadro ha derivado en una rinitis y conjuntivitis bilateral mucopurulenta de presentación aguda con abundante secreción, resecaimiento y agrietamiento de la trufa, tos seca no productiva, anorexia, adelgazamiento, abatimiento e hipertermia (39,8°C).

Las radiografías torácicas VD/LL, perfil hematológico, bioquímico y de orina, citología de las secreciones (con características inflamatorias -fibrina y abundancia de células PMN-) resultaron normales. Comenzamos a tratarlo con enrofloxacin, antitusígenos y expectorantes.

A la semana de tratamiento ha desaparecido la tos, disminuye la secreción ocular, pero persiste la nasal y la anorexia; sospechando (dentro del diagnóstico diferencial) alguna patología de origen vírico, realizamos raspado conjuntival, no observando cuerpos de inclusión ni nada anormal; el animal está caquético, hay intolerancia al ejercicio y aparece un cuadro neurológico, que progresa día a día con bastante rapidez y que pasamos a describir a continuación. También persiste la hipertermia.

CUADRO Y EXPLORACIÓN NEUROLÓGICA.

- El estado mental del animal es de alerta y su conducta es normal.
- El animal presenta debilidad acusada de los miembros pelvianos, ataxia e hipermetría.
- El examen de los pares craneales es normal.
- Se observa déficit propioceptivo en las extremidades posteriores (deja apoyado el dorso de los dedos); dificultad para defecar agachado, e imposibilidad de levantar la extremidad posterior y mantener el equilibrio al orinar como hacía anteriormente; además, no es capaz de levantarse por sí mismo.
- En cuanto a la evaluación de los reflejos espinales, lo más significativo es que el reflejo patelar y el tibial craneal, tienen disminuida su respuesta.
- El tono muscular de las extremidades posteriores está disminuido igualmente, así como atrofia muscular de las mismas.
- No hay incontinencia urinaria ni fecal.
- La percepción del dolor está intacta.
- A la palpación existe mialgia difusa gene-

ralizada, que hace que el animal se torne agresivo y no tolere el contacto.

Todo esto sugiere una patología con lesión de N.M.I. y parálisis flácida de extremidades posteriores, cuadro compatible con una poli-neuropatía periférica ó polirradiculopatía.

Los resultados de las analíticas practicadas son los siguientes:

Bioquímica:

| | |
|---------------------|------------|
| - GPT | 25 U/l |
| - LDH | 263 U/l |
| - FA | 47 U/l |
| - Bilirrubina total | 1,3 mg/dl |
| - Prot. totales | 6,5 g/dl |
| - Albúmina | 2,4 g/dl |
| - CPK | 167 U/l |
| - Urea | 20 mg/dl |
| - Creatinina | 1,0 mg/dl |
| - Glucosa | 90 mg/dl |
| - Calcio | 10,3 mg/dl |

Recuento y hemograma:

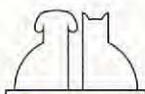
| SERIE ROJA Y PLAQUETAS | SERIE BLANCA |
|------------------------|--------------|
| - Hematíes | 6.460.000 |
| - Hemoglobina (gr/dl) | 14.6 |
| - HTC (%) | 45.5 |
| - MCH | 22.6 |
| - MCHC | 32.1 |
| - MCV | 70.4 |
| - Plaquetas | 376.000 |
| - Leucocitos | 9.340 |
| - Segmentados | 55% |
| - Cayado | 6% |
| - Eosinófilos | 0% |
| - Basófilos | 0% |
| - Monocitos | 18% |
| - Linfocitos | 20% |
| - Metamielocitos | 0% |
| - Blastos (Luck) | 1% |

Serología-Inmunología:

- Anticuerpos anti-*Neospora caninum* (Método: IFI):
Título: 1/200=Títulos superiores a 1/50 son compatibles con neosporosis (según las referencias del laboratorio).
- Anticuerpos anti-moquillo canino:
Título: 1/40 (Tasa moderadamente protectora).
- Anticuerpos antitoxoplasma (Método: IFI):
Título: Ausencia de anticuerpos.
- Antígeno del moquillo canino (Método: IFD):
Título: Antígeno no detectable.
- Anticuerpos antinucleares (Método: IFD):
Título: Negativo (ANA no detectables).

Los análisis de orina, E.C.G. y radiografías torácica y abdominal resultaron ser normales. La extracción de L.C.R. y biopsia muscular y nerviosa se reservan como último recurso debido a reticencias del propietario, y a tener establecido ya el diagnóstico.

Se instaura un tratamiento con clindamicina (Dalacín) a dosis de 40 mg/kg de peso vivo/día en dos tomas; trimetoprim-sulfadiaci-



na (Seprín) a razón de 25 mg/kg/12h y suplementación con ác. fólico ⁽¹³⁾.

A los 3 o 4 días de iniciado el tratamiento, disminuye la anorexia; en una semana comienza a remitir el cuadro neurológico y el animal empieza a caminar con menor dificultad. También a los diez días observamos una disminución de la monocitosis.

Al mes de iniciado el tratamiento (titulación: 1/100), desaparece totalmente el cuadro neurológico, aunque persiste la mialgia difusa generalizada, y el animal no está totalmente normal hasta pasadas seis semanas de tratamiento (titulación: 1/50), sucediéndose durante este período alguna leve crisis (anorexia, debilidad del tercio posterior) en su cuadro clínico.

Durante todo este tiempo, el animal ha estado controlado y chequeado regularmente con analíticas de sangre y orina frecuentes, no observándose en ningún momento afectación hepática, ni ninguna otra alteración considerable. Sí que se ha comprobado durante todo este tiempo una correlación entre el cuadro clínico y la titulación serológica.

A los dos meses de retirar el tratamiento, el animal se presenta de nuevo con debilidad en tercio posterior, anorexia y mialgia difusa, y se le hace otra titulación, dando como resultado 1/200, volviéndose a poner en tratamiento de nuevo durante un mes y medio.

Actualmente el animal hace vida normal, con controles médicos periódicamente.

DISCUSIÓN.

El ciclo de vida completo, así como la fuente y el hospedador definitivo del parásito son desconocidos ^(1, 7, 11, 20, 30).

Los únicos estadios evolutivos conocidos (denominados con la misma terminología empleada para los coccidios) son: los taquizoitos y los ooquistes o quistes tisulares conteniendo los bradizoitos ^(7, 20, 24, 30).

Los primeros se localizan en el interior del citoplasma de diversos tipos celulares del hospedador (neuronas, miocitos, macrófagos, cls. polimorfonucleares, epiteliales,..), y los segundos sólo se encuentran en cerebro y médula espinal ^(7, 20).

La única vía de transmisión conocida y probada es la trasplacentaria ^(1, 7, 20, 33, 38, 40), aunque no todos los cachorros de la camada

desarrollen una respuesta con anticuerpos o una neosporosis clínica ⁽²⁰⁾; y además, puede haber animales que tengan anticuerpos frente a *N. caninum*, siendo asintomáticos.

Experimentalmente sí se ha comprobado que los perros pueden ser infectados por la ingestión de taquizoitos y quistes tisulares ⁽³²⁾.

La acción patógena de este protozoo consiste en la destrucción de las células del hospedador mediante la multiplicación activa de los taquizoitos en su interior ⁽⁷⁾. Sin embargo, la presencia de severas infiltraciones de mononucleares en la médula espinal y en el S.N.C. con una baja cantidad de parásitos, sugiere un componente inmunomediado en la enfermedad ⁽⁷⁾. Los quistes tisulares no producen daño aparentemente, pero sí su ruptura, la cual se produce por mecanismos desconocidos ⁽⁷⁾.

Las infecciones subclínicas pueden ser activadas durante períodos de inmunosupresión (corticoterapia, infestaciones parasitarias...) ⁽⁷⁾.

La enfermedad puede ser localizada o generalizada ⁽⁷⁾.

El cuadro neurológico más comúnmente observado en el perro, es el derivado de una polirradiculoneuritis, que provoca fundamentalmente un déficit propioceptivo de las extremidades posteriores con reflejos espinales disminuidos o abolidos y que evoluciona progresivamente a parálisis, afectando sobre todo a animales jóvenes (la parálisis puede ser flácida o espástica con rigidez de miembros) ^(2, 7, 13, 20, 26, 30, 41).

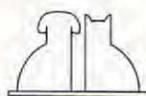
Debilidad cervical, disfagia y muerte pueden sobrevenir con el tiempo ^(7, 41).

Las causas de la muerte son normalmente: miocarditis, parálisis respiratoria o disfunción hepática ^(20, 32). También han sido descritos cuadros de encefalitis: los signos clínicos incluyen ataques-convulsiones, cambios de comportamiento, déficit de nervios craneales y signos cerebrales ^(18, 26).

Se han observado en algunos casos anomalías en el examen del fondo de ojo, afecciones respiratorias (neumonía) y hepáticas e incluso afecciones cutáneas ^(7, 9, 14, 20, 26, 41).

Los hallazgos histopatológicos más frecuentes son: meningoencefalitis no supurativa, polimiositis, hepatitis, polirradiculoneuritis y miocarditis diseminada ^(1, 7, 20, 30, 41).

El análisis de LCR puede revelar pleocitosis mixta y aumento de las proteínas ^(6, 26).



Los valores de referencia del laboratorio donde se mandaron las muestras indican que titulaciones de 1/50 son compatibles con infección subclínica, y titulaciones superiores a 1/100 son compatibles con infección activa; pero otros autores hablan de infección clínica a partir de titulaciones superiores a 1/800 y de subclínica a partir de 1/50, indicando que las madres de cachorros afectados tienen habitualmente títulos iguales o superiores a 1/200 (13, 20, 32).

La infección natural en el perro ha sido descrita en varios países europeos y en EE.UU., Australia, Canadá, Japón, Costa Rica y Sudáfrica, aunque a nivel mundial es una causa importante de abortos y muerte neonatal en bovinos (1, 4, 7, 8, 13, 20, 35-37).

Experimentalmente la enfermedad puede ser inducida en gatos inmunodeprimidos (20).

Existen estudios realizados por diferentes autores que indican la existencia de infecciones subclínicas en la población canina (30): un 16,6% en Inglaterra (27) y un 15,9% en Dinamarca (13).

El tratamiento de elección, y único eficaz conocido hasta el momento, es la combinación de clindamicina y trimetoprim-sulfonamidas (7, 13, 20, 26, 32, 34).

La clindamicina ha resultado eficaz en el tratamiento de las manifestaciones cutáneas de la enfermedad (9).

Se han realizado pruebas con diferentes drogas coccidiostáticas para inhibir el crecimiento de *Neospora caninum* en cultivos celulares, pero su eficacia *in vivo* está por demostrar (21, 30). El pronóstico variará en función de la precocidad en el diagnóstico, siendo éste malo o desfavorable en aquellos casos en los que aparezca contractura muscular, no siendo del todo entendida la causa de esta contractura (13, 20, 32).

Otro medio de diagnóstico es la diferenciación de la ultraestructura de los bradizoitos y taquizoitos en tejido nervioso y muscular, así como en líquidos corporales (por ejemplo, LCR) (19, 26). La electromiografía es

otra técnica diagnóstica de indudable valor, pudiendo confirmarse disfunción neuromuscular con potenciales de desnervación, incluyendo potenciales de fibrilación y ondas en forma positiva en los músculos afectados (31, 32).

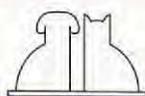
La neosporosis debe ser incluida en el diagnóstico diferencial cuando se nos presente cualquier animal joven con signos neurológicos, especialmente si existe una parálisis progresiva del tercio posterior, porque aunque el rango de edad varíe de las cinco semanas a los quince años, la mayoría de los casos datados tenían menos de un año de edad (13, 20).

El tratamiento durante la gestación con trimetoprim-sulfamidas demostró no ser eficaz para prevenir la infección por *N. caninum* en cachorros, y los criadores deberían ser advertidos de que las perras con infecciones subclínicas continuarán pariendo cachorros afectados, si bien es cierto que no todos los cachorros serán seropositivos o presentarán el cuadro clínico; de todos modos, siempre que sea posible sería interesante testar serológicamente a las madres y al resto de la camada, cosa que no fue posible en nuestro caso (20, 32).

A pesar de haber casos descritos en Cataluña (Hospital Ars Veterinaria en Barcelona, y Clínica Veterinaria Canis en Girona) (30 Congreso Nacional A.V.E.P.A., Madrid 1995) (6, 13), no tenemos constancia de ningún caso diagnosticado en el País Vasco, por lo cual pensamos que es de interés, siendo además un perro autóctono y que no ha salido nunca de aquí.

AGRADECIMIENTOS.

Los autores queremos dar las gracias al Hospital Ars Veterinaria y especialmente al doctor Joan Mascort, por el asesoramiento y la revisión del presente artículo.



BIBLIOGRAFÍA.

- AFIP Wednesday Slide Conference-Nº30,24 May 1995. Case 1. International Veterinary Pathology Slide Bank: Laser disc frame. 19.900, 19.901, 22.918-22.920.
- Aleskic N, Perovic M, Baksac T. Neosporosis a newly discovered parasitic infection of domestic animals. *Veterinaski Glasnik* 1996; 49(7-8):437-442.
- Baker DG, Morishita TY, Brooks DI, Shens SK, Dubey JP. Experimental oral inoculations in birds to evaluate potential definitive hosts to *Neospora caninum*. *Journal of Parasitology* 1995; 85(5): 783-785.
- Barber JS, Holmdahl OJM, Owen MR, Guy F, Uggla A, Trees AJ. Characterization of the first European isolate of *Neospora caninum* (Dubey et al). *Parasitology* 1995; 111(5): 563-568.
- Bjorkman C, Johansson O, Stenlund S, Holmdahl OJM, Uggla A. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Association* 1996; 208(9): 1 441-1.444.
- Cairo J, Pumarola M, Gorraiz J, Led J, Martin N. Infección por *Neospora caninum*. En: Libro de ponencias y comunicaciones libres. 30 Congreso Nacional de A.V.E.P.A. Madrid 1995; 266.
- Dubey JP. *Neospora caninum* infections. En: Kirk RW (ed): Current Veterinary Therapy XI. Philadelphia WB: Saunders, 1992; 263-266.
- Dubey JP, Lindsay DS, Adams DS, Gay JM, Baszler TV, Blagburn BL, Thulliez P. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. *American Journal of Veterinary Research* 1996; 57(3): 329-336.
- Dubey JP, Metzger FL Jr, Hattel AL, Lindsay DL. Canine cutaneous neosporosis: clinical improvement with clindamycin. *Veterinary Dermatology* 1995; 6 (1):37-43.
- Dubey JP, Rigoulet J, Lagourette P, George C, Longeart L, Lenet JL. Fatal transplacental neosporosis in a deer (*Cervus eldi siamensis*). *Journal of Parasitology* 1996; 82 (2): 338-339.
- Ellis JP, Payne S. The primary structure of the internal transcribed spacer region of *Neospora caninum*. *Molecular parasitology Unit-Microsoft Internet explorer*.
- Ellis J, Luton K, Baverstock PR, Brindley PJ, Nimmo KA, Johnson AM. The phylogeny of *Neospora caninum*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1994; 64 (2): 303-311.
- Font A, Mascort J, Closa JM. Infección por *Neospora caninum* en dos perros. En: Libro de ponencias y comunicaciones libres. 30 Congreso Nacional A.V.E.P.A. Madrid: 1995; 267.
- Greig B, Rosson KD, Collins JE, Dubey JP. *Neospora caninum* pneumonia in a 11 year old dog. Microsoft Internet Explorer. Agricultural Research Service:TEKTRAN. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1995; 206 (7): 1.000-1.001.
- Guo ZG, Johnson AM. Genetic comparison of *Neospora caninum* with *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* by random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction. *Parasitology Research* 1995; 81 (5): 365-370.
- Hempil A, Gottsein B, Kaufmann H. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. *Parasitology* 112 (2): 183-197.
- Holmdahl OJM, Mattson JC, Uggla A, Johansson KE. The phylogeny of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* based on ribosomal RNA-sequences. *FEMS Microbiology letters* 1995; 119 (1-2): 187-192.
- Jackson W, De Lahunte A, Adaska J, Cooper B, Dubey JP. *Neospora caninum* in an adult dog with progressive cerebellar signs. *Progress in Veterinary Neurology* 1995; 6 (4): 124-127.
- Jardine JE. The ultrastructure of bradyzoites and tissue cyst of *Neospora caninum* in dog. Absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin. *Veterinary parasitology* 1996; 62 (3-4): 231-240.
- Knowler C, Wheeler SJ. *Neospora caninum* infection in three dogs. *Journal of Small Animal Practice* 1995; 36 (4): 172-177.
- Lally NC, Jenkins MC, Dubey JP. Development of polymerase chain reaction assay for the diagnosis of neosporosis using the *Neospora caninum* 14-3-3 gene. *Molecular and Biochemic Parasitology* 1996; 75 (2): 169-178.
- Lindsay DS, Rippey NS, Cole RA, Parsons LC, Dubey JP, Tidwell RR, Blagburn BL. Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells. *American Journal of Veterinary Research* 1994; 55 (7): 976-981.
- Marsh AE, Barr BC, Sverlow K, Ho M, Dubey JP, Conrad PA. Sequence analysis and comparison of ribosomal DNA from bovine *Neospora* to similar coccidial parasites. *Journal of Parasitology* 1995; 81 (4): 530-535.
- Mehlhorn H, Pietarski G. Esporozoos. En: Fundamentos de Parasitología (Parásitos del hombre y de los animales domésticos) Zaragoza. Ed. Acribia. 1993: 59-60.
- Mc Allister MM, Parmley SF, Weiss LM, Welch VS, Mc Guire AM. An immunohistochemical method for detecting bradyzoite antigen (BAG5) in *Toxoplasma gondii* infected tissues crossreacts with a *Neospora caninum* bradyzoite antigen. *Journal of Parasitology* 1996; 82 (2): 354-355.
- Nuñana KR. Encephalitis and meningitis. En: Bagley RS (ed.): Intracranial disease. The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice. Philadelphia: WB: Saunders, 1996: 863-864.
- Pare J, Hietala SK, Thurmond MC. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1995; 24 (7): 352-359.
- Rasmussen K, Jensen AL. Some epidemiologic features of canine neosporosis in Denmark. *Veterinary Parasitology* 63 (3-4): 345-349.
- Soulsby EJ. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. México DF: Ed. Interamericana. 198: 515-520.
- Wouda W, De Long JK, van Knape Walvoort HC. *Neospora caninum* as a cause of paralysis in littermate pups. En: *The European Journal of Companion Animal practice*. Ed. SCIVAC-AIVPA. 1995: 21-25.
- Flagstad A, Jensen HE. *Neospora caninum* polymyositis in dogs: Clinical, electrophysiological and pathological findings. En: European Society of Veterinary Neurology.
- Knowler C, Wheeler SJ, Lathe C. Canine neosporosis. En: European Society of Veterinary Neurology.
- Cole RA, Lindsay DS, Blagburn BL, Dubey JP. Vertical transmission of *Neospora caninum* in mice. *Journal of Parasitology* 1995; 81 (19): 730-732.
- Lindsay DS, Butler JM, Ripper NS, Blagburn BL. Demonstration of synergistic effects of sulfonamides and dihydrofolate reductase/thymidylate synthase inhibitors against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells and characterization of mutants resistant to pyrimethamin. *American Journal of Veterinary Research* 1996; 57 (1): 68-72.
- Morales JA, Dubey JP, Rodríguez F, Esquivel RC, Fritz D. Neosporosis and toxoplasmosis associated paralysis in dogs in Costa Rica. *Applied Parasitology* 1995; 36 (3): 179-184.
- Sveter T, Sebestyen P, Dubey JP. Neosporosis in a dog in Hungary. *Parasitologi Hungarica* 1993; 25 (13): 5-8.
- Flagstad A, Jensen HE, Bjerkas I, Rasmussen K. *Neospora caninum* infection in a litter of Labrador Retriever dogs in Denmark. *Acta Veterinaria Scandinavica* 1995; 36 (3): 387-391.
- Cole RA, Lindsay DS, Blagburn BL, Sorjonen DC, Dubey JP. Vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Journal of Parasitology* 1995; 81 (2): 208-211.
- Woods LW, Anderson ML, Swift PK, Sverlow KM. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1994; 6 (4): 508-510.
- Barr BC, Conrad PA, Sverlow KW, Tarantal AF, Hendrickx AG. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the non human primate. *Laboratory Investigation* 71 (2): 236-242.
- Greene. Enfermedades infecciosas del perro y gato. Ed. Saunders. 868-873.

