ALFILERILLO SELLADOR

Autor: Sofía Milagros Leyton⁽¹⁾; Co-autores: Gonzalo Damián Monge⁽²⁾ y Dr. Juan B. Beltramino⁽³⁾. 2013.

Enviado por sus autores.

(1) (2) (3) beltra 154@yahoo.com.ar

(1) (2) (3) Escuela Agropecuaria Provincial N° 1, Gobernador Gregores, Santa Cruz. Argentina.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: Producción bovina de leche en general

RESUMEN

La desinfección de pezones es utilizada en los tambos en forma habitual, existiendo numerosas formulaciones disponibles en el mercado. La antisepsis de los pezones post-ordeño tiene por objeto eliminar los microorganismos presentes en el pezón, impedir la colonización de estos en el orificio del pezón.

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de reemplazar los antimicrobianos habitualmente utilizados en los selladores de pezones comerciales por un recurso herbolario local, el alfilerillo (*Erodium cicutarium*), en forma de infusión como principio activo y detectar así nuevas fuentes de agentes antimicrobianos sin atentar contra la eficacia del producto. Para evaluar su efectividad se hicieron determinaciones in-vitro en el laboratorio escolar. El trabajo de campo se realizó en los bovinos del tambo de La Escuela Agropecuaria Provincial Nº 1 de Gobernador Gregores, Santa Cruz, Argentina, durante los meses de abril a setiembre del 2013. Los resultados obtenidos en este ensayo utilizando el sellador con base de infusión de alfilerillo mostró un buen comportamiento antiséptico ya que redujo en más de 3 logaritmos las unidades formadoras de colonia provenientes de la piel del pezón en los ensayos in-vitro, estimación adaptada del Protocolo A de la National Mastitis Council. En los ensayos a campo redujo la carga bacteriana de la piel del pezón luego de 21 días de aplicación en un 71 %.

Palabras clave: Sellador de pezones, Alfilerillo, antisépticos.

INTRODUCCIÓN

El número y tipo de bacterias en la piel del pezón guarda una relación directa con la incidencia y tipos de infecciones intramamarias (IIM) que se establecen en la glándula. Consecuentemente, las prácticas que tiendan a reducir la exposición del pezón a los organismos patógenos, como la desinfección de pezones, disminuirán sustancialmente las nuevas IIM.

La desinfección del pezón es una de las medidas preventivas más importantes en el control de la mastitis. Se realiza antes del ordeño (pre dipping) o con más frecuencia, después (post dipping). El pre dipping controla la mastitis ambiental; el desinfectante permanece en contacto con el pezón 30 segundos como mínimo, luego se seca y se coloca la unidad de ordeño. El post dipping controla la mastitis contagiosa; el desinfectante se coloca en forma inmediata a la extracción de las pezoneras y los pezones no deben secarse.

Entre los principales motivos por los cuales se realiza la desinfección de los pezones post ordeño son:

- Elimina las bacterias causantes de mastitis que se alojan en la piel del pezón.
- ♦ Elimina las bacterias de pezones inflamados.
- Mejora la calidad de la piel del pezón.

La aplicación de estos productos antimicrobianos para el control de microorganismos productores de infecciones mamarias es una práctica habitual que debido al uso indiscriminado trae consigo algunas consecuencias negativas como es la generación de cepas bacterianas resistentes. Es preocupante el alto porcentaje de cepas bacterianas resistentes a uno o más fármacos, considerando que el descubrimiento de nuevas drogas antimicrobianas no es una tarea sencilla debido a que de cientos de moléculas que se investigan un número reducido llega a la fase de evaluación clínica y solo algunas son comercializadas. También se debe considerar los residuos en leche que dejan estos antibióticos que se utilizan comúnmente.

La Organización Mundial de la Salud señala que la resistencia antimicrobiana debe ser considerada un problema grave, complejo y de dimensión internacional, y que es conveniente poner en marcha un sistema global de vigilancia, recomendando que se fijen políticas gubernamentales orientadas al uso racional de estos medicamentos en medicina humana y veterinaria. Por otro lado, la Comunidad Europea, considerando que no se debe incrementar el reservorio de bacterias resistentes en los animales de producción.

El uso eficiente y a conciencia de los selladores de pezones disminuirá la aparición de Infecciones Intramamarias, patologías que utilizan antibióticos en su terapéutica habitual.

En este ensayo se reemplaza un componente tradicional de los selladores de pezones como es el Iodo, siempre presente en los productos elaborados y usados con este fin, por una infusión de un recurso herbolario de la zona como lo es el Alfilerillo pastor.

ALFILERILLO DE PASTOR, PEINE DE LA BRUJA, AGUJA DE VAQUERO

Nombre científico: Erodium cicutarium

Origen: es originario de la región mediterránea y desde hace mucho tiempo está aclimatado en la zona Centroeuropea. En esta región de patagonia sur se desarrolla en forma natural en plena meseta, a los costados de las rutas y entre las rocas.

Hierba anual o bienal, de porte compacto y rastrero con hojas verdes recortadas con unas telillas triangulares en la base que se extienden sobre numerosas ramas engrosadas en los nudos. Flores rosadas pequeñas, dispuestas en cimas umbiliformes. Frutos secos con largo pico.

Con fines medicinales se recogen las hojas y las flores y se secan al aire o en secadero a menos de 40°C. Con estas hojas se prepara la infusión con agua a ebullición.

Propiedades farmacológicas: Astringente, antiséptico, depurativo, hemostático, vasoconstrictor.

Composición y principios activos: aceite esencial, cafeína, fenol, flavona, tanino, saponina.

Saponinas: Son glucósidos vegetales que forman soluciones acuosas coloidales. Los más importantes son glucósidos cuyas geninas, denominadas sapogeninas, derivan del ciclopentanoperhidrofenantreno -esteroides-, como la digitonina.

Taninos: Son sustancias de origen vegetal, no nitrogenadas, solubles en agua y alcohol, de sabor astringente, y que forman precipitados con las sales metálicas, proteínas y alcaloides. Químicamente son derivados fenólicos unidos por lo general a la glucosa.

En el reino vegetal existen diversos taninos, derivados fenólicos unidos generalmente a glucosa; el más conocido es el ácido tánico o tanino propiamente dicho. Químicamente, el ácido tánico deriva de la glucosa y el ácido gálico, considerándoselo como penta-m-digaloilglucosa. Todos los taninos solubles y en especial el ácido tánico tienen la propiedad de precipitar las proteínas, los alcaloides y los metales pesados, formando tanatos insolubles en agua -fenómeno bien evidente en el curtido de los cueros.

A nivel de la piel lesionada y mucosas se forma una capa de proteína precipitada en la superficie celular que: a) protege dichas estructuras de los irritantes;

- b) impide las exudaciones y excreción mucosa;
- c) detiene las pequeñas hemorragias -oclusión de los minúsculos vasos-;
- d) como consecuencia la mucosa queda pálida y retraída -acción astringente-.

EXCIPIENTES

Son los componentes que se agregan al sellador y que le dan más, consistencia, adherencia y estabilidad físico química.

En la elaboración del sellador se utilizaron como excipientes y agentes de formulación: propilenglicol , carbopol, glicerina y vitamina A.

OBJETIVOS

- Elaborar un sellador de pezones a base de infusión de alfilerillo.
- Comprobar el poder antiséptico in-vitro y a campo.

MATERIALES Y METODOS

MATERIALES

El presente ensayo se realizó entre marzo del 2012 y agosto del 2013, en la Escuela Agropecuaria Provincial N° 1 de Gobernador Gregores, Provincia de Santa Cruz. Se utilizaron tres vacas en ordeñe Holando Argentino de la Escuela Agropecuaria N° 1, con una edad promedio de 6 años. Los animales estaban en producción, el ensayo se realizó entre el 2° y 5° mes de lactancia. Estaban clínicamente sanos, dieron resultado negativo al protocolo de diagnóstico de brucelosis (antígeno bufferado en placa) que realizó el Laboratorio Regional de Sanidad Animal, Consejo Agrario Provincial, Provincia de Santa Cruz y a la prueba Test Mastitis California (CAM), que se realiza en forma mensual en el Tambo de la Escuela. Los bovinos recibieron durante el ensayo la misma alimentación que durante el resto del período de lactancia consistente en pasturas polifíticas de la zona y dos kilogramos de balanceado "vaca lechera" con un 14% de proteínas.

MÉTODOLOGÍA

Con el alfilerillo se preparó una Infusión a base de 10 g de planta entera desecada y triturada con mortero y pilón en 250 ml de agua, se dejó macerar durante 12 horas y luego se hirvió durante 2 minutos. Es la misma preparación descripta por los pobladores rurales locales, a quienes se consultó sobre cómo la preparaban y el uso que ellos le daban al vegetal.

Se elaboró un sellador de pezones utilizando la infusión de alfilerillo y agentes de formulación (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de la formulación preparada base alfilerillo

Infusión de alfilerill	o 70 ml
Propilenglicol	20 ml
Carbopol	0,5 g
Glicerina	10 ml
Vitamina A 50	00.000 UI

Preparación del sellador en el Laboratorio Escolar

Para la preparación del producto se dispersó glicerina, carbopol y propilenglicol en los 70 ml de la infusión de alfilerillo. Todos los componentes de la formulación fueron colocados en un vaso de precipitado de 250 ml. Se llevó al agitador magnético a 500 r.p.m. durante una hora, en los últimos 15 minutos se agregó la vitamina A, luego se filtró con gasa estéril transvasándose a un erlenmeyer de 250 ml. Se estabilizó el pH en 7 con buffer.

Aplicación

Para aplicar el sellador se utilizó un dispositivo comercial que posee un reservorio de producto y una taza que recibe por un orificio intermedio el sellador (Fig. 1). Se utilizó en promedio unos 10 ml por vaca por ordeño, con este volumen se pudo abarcar una buena superficie del pezón. La taza se aplicó de forma tal que el borde tomó contacto con la ubre y luego se agita para asegurar la cobertura total del pezón. Se desinfectó toda la superficie del pezón que ha estuvo en contacto con la pezonera (fig. 2).

Figura 1. Dispositivo para la aplicación



Figura 2. Aplicación del sellador de pezones mediante el dispositivo comercial.



Se evaluó la actividad antiséptica del sellador de pezones preparado en el laboratorio escolar, para ello se realizaron ensayos, en una primera instancia in-vitro y luego ensayos a campo.

Para los ensayos in-vitro se hizo una adaptación de la metodología propuesta por el protocolo del National Mastitis Council, (EEUU) que da como límite aceptable para la eficiencia de un sellador, la reducción de más de tres logaritmos de la población bacteriana de la piel del pezón comparado con el control sin aplicación del sellador. Este método se realiza sobre pezones escindidos obtenidos en mataderos. En este ensayo se utilizaron muestras, con tres repeticiones, obtenidas por aplicación de las cajas de petri con el medio de cultivo sobre la piel de cada pezón de los animales en ordeñe.

Se realizó el análisis estadístico no paramétrico Chi cuadrado, para la comprobación entre rebaños muestreados, a un nivel de probabilidad de error menor que 0,05, se utilizó el programa EPI INFO versión 3.3.2.

Los costos se expresaron en dólares americanos luego de haberlos convertido desde la moneda local (Tabla 2)

Tabla 2. Precios de mercado de los insumos utilizados

	Costo en U\$S	Cantidad necesaria	U\$S
INFUSIÓN DE ALFILERILLO	0	0,07 ml	0
GLICERINA	6,67	0,01ml	0,067
PROPILENGLICOL	10,00	0,02 ml	0,20
CARBOPOL	75,00	0,005 g	0,38
Vit. A (UI)	7,00	500.000 UI	0,70
COSTO TOTAL INSUMOS DÓLARES POR LITRO			1,34

ENSAYOS IN-VITRO

Se realizaron ensayos in vitro para evaluar el poder antiséptico del alfilerillo.

Inóculo: Previo al inicio del ensayo con el sellador, se tomaron muestras de la superficie de los 12 pezones de glándulas mamarias de las tres vacas en ordeñe del tambo de la Escuela Agropecuaria y se sembraron en placas con medio de cultivo Agar de Recuento en Placa de Laboratorios Britania (ARP). Se incubaron 24 hs a 37 °C. Del desarrollo de las colonias más representativas y las que se repitieron en el mayor número de cajas, se realizó el ensayo in vitro.

Se preparó una concentración bacteriana de aproximadamente 10⁸ microorganismos por mililitro equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.

Luego se preparó una solución de extracto de alfilerillo: se maceraron 20 g de partes aéreas desecadas de las plantas en 100 ml de una solución etanol:agua (1:1, v/v) durante 24 h a temperatura ambiente. El residuo fue extraído con etanol y llevado a sequedad a 70°C. Se resuspendió 5 g de este residuo seco en 30 ml de agua destilada estéril para ser empleado en los ensayos.

Se prepararon dos baterías de cajas de petri de 10 cm de diámetro, con 5 cajas con ARP y otras 5 con el medio de cultivo con el agregado de 1 ml de la solución del extracto de alfilerillo antes de que el agar solidifique. Todas las cajas se sembraron con el inoculo que se preparó a partir de gérmenes presentes en las glándulas mamarias de los bovinos pertenecientes al ensayo. Las placas se incubaron a 37°C y se examinaron a las 24 horas, registrándose el desarrollo de unidades formadoras de colonia (UFC).

El criterio utilizado para determinar actividad antimicrobiana fue el desarrollo de UFC. Se hicieron tres repeticiones semanales con nuevas preparaciones de extracto de alfilerillo.

ENSAYO A CAMPO

Se preparó el medio de cultivo ARP y se llenó con el mismo asépticamente tapas de crisoles estériles de 3,5 cm de diámetro lo que da una superficie de 9,62 cm², luego se colocan esas tapas de crisoles en cajas de petri estériles quedando así listas para utilizar. Es decir se prepararon 12 tapas de crisoles con medio de cultivo ARP por día.

Las primeras tomas de muestras se llevaron a cabo durante el mes de mayo del 2013 y se realizaron al llegar los bovinos a la sala de ordeño se utilizaron como muestras testigos, es decir sin aplicación del sellador de pezones

Posteriormente en los meses de julio - agosto se realizó nuevamente la toma de muestras pero en este caso los bovinos recibieron, al finalizar el ordeñe diario, la aplicación del sellador preparado a base de infusión de alfilerillo.

Todas las tomas de muestras se realizaron en forma consecutiva durante una semana con dos repeticiones posteriores.

La toma de muestras se realizó aplicando la tapa del crisol con el medio de cultivo sobre el extremo de cada pezón realizando una suave presión ascendente (fig. 3). Luego se colocó en las cajas de petri y se llevaron a estufa de cultivo a 37°C a las 24 hs. Se realizó el conteo de las UFC desarrolladas. Los valores diarios obtenidos de cada pezón de un mismo bovino fueron promediados.

Figura 3. Toma de muestras con la tapa de crisol con ARP



Para una primera aproximación a la identificación de los gérmenes que desarrollaron se utilizó la coloración de Gram.

RESULTADOS

ENSAYOS IN-VITRO

Tabla 3.Poder germicida del concentrado de alfilerillo ante el desafío con el inóculo de gérmenes de piel de pezones. (Log UFC promedio/caja de petri)

8				
	UFC/ CAJA PETRI	UFC/ CAJA DE PETRI		
	(ARP+INÓCULO)	(ARP+CONCENTRADO DE ALFILERILLO+INÓCULO)		
$\operatorname{Log} \Sigma$ de las 5 d		Log ∑ de las 5 cajas		
FECHA 07/05	6,99	1,30		
FECHA 08/05	6,99	1,08		
FECHA 10/05	6,97	1,38		

ENSAYO A CAMPO

Tabla 4. Muestras testigo: toma de muestras durante Mayo 2013 sin aplicación de sellador. Los valores diarios obtenidos de cada pezón de un mismo bovino fueron promediados.

Luego se hizo un promedio semanal por animal

Edego se meo un promedio semanai poi ammai					
	1° semana	2° semana	3° semana		
	UFC/TC	UFC/TC	UFC/TC		
VACA 53	450 ±17	400 ±15	420 ±15		
VACA 98	420 ± 15	400 ± 14	420 ± 15		
VACA 32	400 ±14	400 ±14	450 ±17		

(TC) Tapas de crisoles con medio de cultivo

Tabla 5. Variación en el número de UFC en la piel del pezón debido a la aplicación del sellador de pezones. (UFC promedio/TC). Los valores diarios obtenidos de cada pezón de un mismo bovino fueron promediados.

1° Semana

	29/07	30/07	31/07	01/08	02/08	03/08	04/08
	UFC/TC						
VACA 53	400 ±14	400 ±14	450 ±17	350 ±14	300 ±13	300 ±13	300 ±13
VACA 98	420 ±17	400 ±15	400 ±15	450 ±17	300 ±14	300 ±14	300 ±14
VACA 32	450 ±17	450 ±18	420 ±17	400 ±15	400 ±15	380 ±14	350 ± 15

(TC) Tapas de crisoles con medio de cultivo

2° Semana

	05/08	06/08	07/08	08/08	09/08	10/08	11/08
	UFC/TC	UFC/TC	UFC/TC	UFC/TC	UFC/TC	UFC/TC	UFC/TC
VACA 53	250 ±14	300 ±15	300 ±15	200 ±9	200 ±12	200 ±12	200 ±12
VACA 98	200 ±12	400 ±16	300 ±14	300 ±14	200 ±12	200 ±12	200 ±9
VACA 32	350 ± 14	320 ±14	280 ±13	250 ±14	250 ±13	250 ±14	220 ±12

(TC) Tapas de crisoles con medio de cultivo

3° Semana

	2 Semana						
	12/08	13/08	14/08	15/08	16/08	17/08	18/08
	UFC/TC	UFC/TC	UFC/TC	UFC/TC	UFC/TC	UFC/TC	UFC/TC
VACA 53	200 ±12	200 ±12	160 ±10	150 ±12	150 ±10	150 ±12	150 ±10
VACA 98	250 ±12	200 ±10	100 ±9	100 ±9	100 ±9	100 ±9	100 ±9
VACA 32	210 ±12	180 ±10	160 ±10	150 ±12	120 ±9	120 ±12	120 ±10

(TC) Tapas de crisoles con medio de cultivo

Tabla 6. Resumen de valores obtenidos al comienzo y fin del ensayo. Variaciones en el conteo de UFC

	29/07	18/08	MODIFICACIONES
	UFC/TC	UFC/TC	MODIFICACIONES
VACA 53	400 ±14	150 ±10	-62%
VACA 98	420 ±17	100 ±9	-76%
VACA 32	450 ±17	120 ±10	-73%
Promedio	423 ±16	123 ± 9.7	-71%

(TC) Tapas de crisoles con medio de cultivo

TEST MASTITIS: Resultado Negativo

COLORACIÓN DE GRAM: Mayoría de cocos gram positivos y algunos gram negativos.

DISCUSIÓN

En farmacología general se utiliza como técnica de valoración de poder antiséptico la Norma CEN que consiste en la reducción mínima de 10⁵ el número de microorganismos en 60 minutos o menos. Esta Norma utiliza solo dos microorganismos indicadores, *Staphilococus aureus y Pseudomona aeruginosa* en concentraciones de 1,5 x 10⁷ y 5 x 10⁷. Otro método es el que mide la concentración inhibitoria mínima (CIM) que se basa en enfrentar el supuesto desinfectante con una determinada bacteria, si por ejemplo se busca erradicarla de un hospital, o con grupos de gérmenes indicadores. En este ensayo no se utilizaron por la difícil disponibilidad de esos gérmenes puros.

El sellador de pezones comercial con formulaciones a base de Iodo tiene probada actividad antiséptica es por eso que en este trabajo se decidió evaluar solo la capacidad antiséptica de la infusión de alfilerillo.

El trabajo realizado es coincidente con un investigaciones hechas con especies vegetales con propiedades antisépticas, donde se demostró que bolsa de pastor (*Capsella bursa pastoris*) y la roseta francesa (*Tribulus terrestris*) presentan actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* utilizando como solvente de extracción cloroformo, mientras que los extractos metanólicos dieron negativo. Los resultados obtenidos evidencian la eficacia del método desarrollado, sistematizado, para la identificación de otras plantas de esta región con propiedades antimicrobianas. Si bien los datos obtenidos en este estudio provienen de pruebas "in vitro" y "a campo" la información acerca de la susceptibilidad de este grupo de gérmenes frente a la infusión de alfilerillo puede ser utilizada, como referencia para el aislamiento de drogas potencialmente útiles para la antisepsia.

En cuanto a su mecanismo de acción antiséptica, Florencia Malamud del Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. César Mistein, explica en el número 133 de Ciencia Hoy, que muchas bacterias requieren formar estructuras supracelulares para proliferar, infectar plantas y animales o resistir a condiciones adversas. Por ello forman biofilms o biopelículas que son comunidades de microorganismos integrados metabólicamente. Las bacterias que componen el biofilm se ubican dentro de una matriz que ellas mismas producen, constituida por azúcares complejos, proteínas y ADN, adherida a una superficie inerte o un tejido vivo. Este biofilm producido por algunas bacterias impide la entrada de antibióticos y vuelve crónica la infección bacteriana. Actualmente se considera que las bacterias viven casi toda su vida en esas comunidades y que de vez en cuando alguna sale para conquistar un nuevo nicho. Se puede inferir que el uso de este antiséptico a base de alfilerillo, vegetal con contenido de tanino, que actúa coagulando proteínas en superficie, impide la formación del biofilm protector de los gérmenes.

Al analizar los niveles de reducción de la carga bacteriana en las pruebas in-vitro, los resultados permiten sugerir que este antiséptico puede ser considerado como una fuente de importante antimicrobiano frente a los selladores comerciales. (Tabla 3)

En los resultados a campo se verifica que las determinaciones que se hicieron in-vitro tienen su correlato en la elaboración y aplicación del sellador. En la tabla 4 se aprecia que se mantienen estables los valores de carga bacteriana en pezones durante la toma de muestras de 21 días sin la aplicación del sellador. En las tablas 5 y 6 se resumen los valores obtenidos durante el ensayo con la aplicación del sellador donde se aprecian reducciones del 72% en la carga de gérmenes hacia el final de los días que duró el ensayo con respecto a los valores que se hallaron en los primeros días del ensayo.

CONCLUSIÓN

Se concluye que fue posible formular un sellador de pezones post ordeñe con infusión de alfilerillo como principio activo, con reducciones de más de tres logaritmos en ensayos in vitro y reducciones de más de un 70% en el desarrollo de UFC en la piel del pezón.

BIBLIOGRAFÍA

Calvino, Luis. Desinfección de pezones post-ordeño: limitaciones y recomendaciones. Rafaela [Argentina]: Inta, 1998. Información Técnica, 143. p 1-4.

Kleinschroth, Ernst; Rabod, Karl; Deneke, Jürgen, Deneke. La mastitis: diagnostico, prevención y tratamiento. 2ª ed. Barcelona: Edimed, 1991.

López Tevez, Leonor; Torres, Carola. Trabajo Practico N°8. Determinación de la actividad antimicrobiana. Chaco: Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias, 2006.

Práctica bovina 2. Buenos Aires: Inter Médica, 2000.

Ríos, Rosa S; Ramos, Nelsi A; Vranic, María L y Farías, María E. Desarrollo de un Sellador Post-Ordeño con Goma Espina Corona. Inf. tecnol. [on line]. 2013, vol.24, n.2 [citado 2013-09-04], pp. 31-36. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642013000200005&lng=es&nrm=iso. ISSN 0718-0764. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642013000200005.

- Toribio, Mirta S., Oriani, Susana D., Toso, Ricardo E., A. Tortone, Claudia, G. Fernández, Jésica. Suceptibilidad de Staphylococcus aureus a extractos vegetales obtenidos de plantas nativas y naturalizadas de la provincia de La Pampa, Argentina. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas [en línea] 2007, 6 (Sin mes): [Fecha de consulta: 4 de septiembre de 2013] Disponible en:http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617472027> ISSN 0717-7917.
- Antunez Ferreira, Fabiane; Souza Cruz, Raquel; Sá Figueiredo, Adnes Marie. Superbacterias: El problema mundial de la resistencia a los antibióticos. Ciencia Hoyn2013, 23(133):39-43.
- Manual de procedimientos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos. Ministerio de Salud; Subsecretaría de Investigación y Tecnología ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Departamento Bacteriología, Servicio Antimicrobianos, Buenos Aires, Argentina, 2001.

Volver a: Producción bovina de leche en general