

**PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DE LOS ADHESIVOS DE
POLIMERIZACION UTILIZADOS EN CIRUGIA**

Por *J. C. Domínguez Fdez.-Tejerina*
M. Alvarez Martínez
J. C. Boixo Pérez-Holanda
L. Anel Rodríguez
J. Díaz-Faes García

INTRODUCCION

Ya al comienzo del presente siglo fueron sintetizados plásticos a partir de polimerizados de los esteres del ácido acrílico, pero es en 1957 cuando COOVER⁵ da a conocer la propiedad aglutinante o adhesiva de algunas sustancias plásticas al transformarse de monómeros (en estado líquido) a polímeros (en estado sólido), a expensas de la absorción de pequeñas cantidades de humedad. Este descubrimiento es el que da origen, dentro del natural interés de los cirujanos en el perfeccionamiento de las técnicas y material quirúrgico, a su utilización en la síntesis quirúrgica tisular, especialmente en los órganos parenquimatosos, en los que, por su escasa consistencia, difícilmente soportan las suturas convencionales sin desgarrarse, y en los órganos huecos, en los que, por la mayor adaptabilidad, se evitarían las dehiscencias y fistulizaciones.

La utilización de los adhesivos en cirugía, cuya denominación actual de «sustancias plásticas adhesivas» incluye a los polímeros sintéticos¹⁰, se basa en la falta de toxicidad y tolerancia a su implantación en el organismo. La polimerización sobre los tejidos orgánicos es extraordinariamente rápida, ya que en un tiempo que oscila entre 5 y 30 segundos establecen una adherencia estable entre los tejidos, toda vez que ninguna secreción orgánica es capaz de producir su despolimerización. Posteriormente, estas sustancias son fagocitadas y destruidas, siendo sustituidas en pocas semanas por un auténtico tejido cicatricial de tipo conjuntivo fibroso.

La primera descripción de su utilización en cirugía fue la de SELVERSTRONE y RONIS¹¹ en 1958, para reforzar la sutura de un aneurisma intracraneal. Posteriormente han sido utilizadas con éxito por otros autores en diversos tipos de intervenciones^{7, 8, 13, 14}. Nosotros las hemos introducido, con éxito, en la cirugía mamaria de bóvidos, como ya expusimos en el I Congreso Nacional de Patología

Bovina¹ y en las Jornadas de Ganado Vacuno de Madrid, en diciembre de 1983⁶, así como, con carácter experimental, en el cierre del muñón duodenal en el perro gastrectomizado².

En el presente trabajo, realizado en colaboración entre las Cátedras de Cirugía y Reproducción y de Patología Infecciosa de la Facultad de Veterinaria de León, hemos pretendido profundizar en el conocimiento de un aspecto biológico sumamente interesante de estas sustancias plásticas (2-metil-cianocrilato y 2-butil-cianocrilato), tal como es su posible capacidad bacteriostática y/o bactericida, frente a microorganismos generalmente encontrados en heridas, así como en el carácter autoestéril de estos productos, tanto «in vitro» como «in vivo» en heridas quirúrgicas experimentales en ratón.

MATERIAL Y METODOS

Sustancias plásticas utilizadas

En la presente experiencia se han utilizado las siguientes sustancias plásticas adhesivas de uso en cirugía:

— 2-metil-cianocrilato: Sustancia viscosa transparente fabricada por Riker Laboratories Inc. 3M, Saint Paul, Minnesota, USA, presentada en tubos de 3 g.

— 2-butil-cianocrilato: Histoacryl, Marca Registrada, B. Braun Meisingen AG, Rep. Fed. de Alemania, presentado en ampollas de 0,5 g.

Pruebas «in vitro»

La esterilidad de las sustancias plásticas se comprueba mediante siembra de 40 mcl de cada uno de los adhesivos en los siguientes medios: caldo thioglicolato (Merck), caldo caseína peptona soja peptona (Merck) con un 5 % de suero de ternero y caldo Sabourand glucosa 2 % (Merck). La incubación se realizó a 37°C y a temperatura de laboratorio. A los 15 días se hicieron resiembras de 5 ml de cada caldo, dándose por finalizada la prueba a los 30 días.

Las pruebas de sensibilidad se realizaron siguiendo el método de BAUER *et al.*⁴ de difusión en medio sólido, sustituyendo los discos de papel por gotas depositadas tanto sobre la superficie como en pocillos de 8 mm de diámetro practicados en el ágar.

Las cepas bacterianas utilizadas en la prueba fueron:

— *Staphylococcus aureus*: NCTC 10.657 (Difco), ATCC 25.178 (Difco), N 106, N 108 y II-2.

— *Streptococcus pyogenes*: ATCC 19.615 (Difco).

— *Corynebacterium pyogenes*.

— *Pseudomonas aeruginosa*: ATCC 27.853 (Difco).

— *Escherichia coli*.

— *Klebsiella pneumoniae*.

Para la preparación de los inóculos se parte de cultivos puros en ágar triptosa (Difco), de donde se toma un número pequeño de colonias que se siembran en caldo tripticasa peptona soja peptona (Merck). Después de un tiempo de incubación de 5 a 8 horas a 37°C se ajustaron las suspensiones bacterianas por espectrofotometría, mediante la adición de suero fisiológico, con la densidad 0,5 de la escala de McFarland (BaCl₂ 2H₂O, 0,048 M; 0,5 ml; H₂SO₄, 0,36 N; 99,5 ml).

La prueba se realiza en placas de 90 mm de diámetro con 25 ml de ágar Mueller-Hinton (Oxoid). La siembra del inóculo en la placa se realiza con hisopo por tres veces y en tres direcciones, después de su inmersión y posterior presión y rotación contra las paredes del frasco para eliminar el exceso del inóculo.

Se depositaron gotas de 20 y 40 mcl de ambos adhesivos sobre la superficie del medio y en pocillos, desde una altura de 10 mm. Después de media hora a temperatura ambiente se incubaron a 35°C en estufa, realizándose la lectura a las 18 horas.

A los medios empleados para el crecimiento del *S. pyogenes* se agregó suero bovino en un 5%.

Prueba «in vivo»

Con objeto de determinar el comportamiento de las sustancias plásticas estudiadas en heridas quirúrgicas experimentales y contaminadas con los diferentes microorganismos descritos se utilizaron 63 ratones de laboratorio, *Mus musculus* línea NMRI (23 machos y 40 hembras), de una edad media de 10 semanas, con los que se formaron 21 grupos experimentales de acuerdo con el tipo de sutura (seda del núm. 00, 2-metil-cianocrilato y 2-butil-cianocrilato) y con los seis tipos de microorganismos contaminantes (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *C. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *K. pneumoniae*), dejando un grupo testigo sin contaminar por cada tipo de sutura utilizada.

La herida quirúrgica experimental que se practicó fue realizada en la piel abdominal sobre la línea alba con una longitud de 2 cm, interesando piel y tejido conjuntivo subcutáneo. La herida se contaminó mediante un hisopo previamente inmerso en los inóculos de los diferentes microorganismos ya citados, tal y como se describe para las pruebas «in vitro», de acuerdo con los grupos experimentales establecidos. Posteriormente se procedió al cierre de la herida con uno de los tres tipos de sutura, según los grupos experimentales ya descritos.

Una vez intervenidos, los ratones se mantuvieron en observación durante una semana, tiempo durante el cual se controlaba diariamente la temperatura rectal, peso y evolución clínica de la herida.

Análisis estadístico

Se efectuó un análisis de varianza de las clasificaciones de dos vías para las temperaturas y pesos. En las comparaciones particularizadas se empleó el método de la Mínima Diferencia Significativa (M.D.S.), siguiendo la metodología descrita por SNEDECOR y COCHRAN¹².

RESULTADOS

Pruebas «in vitro»

Respecto a las pruebas realizadas en orden a comprobar la esterilidad de las sustancias plásticas utilizadas, en la presente experiencia todas ellas fueron negativas, toda vez que en ningún caso se produjo crecimiento bacteriano en los medios sembrados.

Los resultados de las pruebas de sensibilidad se recogen en los cuadros 1 y 2.

Cuando se depositó la gota de 2-butil-cianocrilato sobre la superficie del ágar se formó de modo inmediato una zona de polimerización irregular externa alrededor de ella. Este fenómeno también se observó cuando la gota se dejó en pocillo, pero solamente cuando el volumen de la misma era de 40 mcl. Con gota de 20 mcl en pocillo esta polimerización rugosa se observó en su interior.

Con el 2-metil-cianocrilato, esta zona de polimerización externa tenía una forma circular de carácter regular alrededor de la gota.

Al aplicar el 2-butil-cianocrilato se formó, de manera constante, alrededor de la zona de polimerización irregular externa o del pocillo una zona de aclaramiento cuyo diámetro era similar, para todas las cepas empleadas, a igual volumen de adhesivo. Investigada la presencia de bacterias en esta zona mediante tinción en porta por el método de Gram, se observó la presencia de un pequeño número de bacterias incluidas o atrapadas en las mallas de polimerización de los adhesivos en su zona de difusión, constatándose, por comparación con las zonas de crecimiento de la misma placa, que la multiplicación bacteriana fue escasa o nula. Únicamente en aquellos casos en que no se observaban halos de inhibición del crecimiento, esta zona estaba abundantemente colonizada por bacterias.

Los diámetros de los halos de inhibición con las cinco cepas de *S. aureus* testadas fueron prácticamente iguales, variando entre 14 mm en el caso de 20 mcl en pocillo para el 2-metil-cianocrilato y 26 mm con 40 mcl de 2-butil-cianocrilato en superficie. Con estas cepas, y cuando el 2-metil-cianocrilato se añadía en superficie al medio, apareció un anillo de estimulación a distancias comprendidas entre 14 y 20 mm según cepas y volumen de adhesivo empleado, anillos que no aparecían cuando el adhesivo era depositado en pocillo.

CUADRO I
(2-butil-cianocrilato)

	CEPAS*									
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j
Gota dentro del pocillo 20 mcl	Diámetro del pocillo	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Diámetro zona de aclaramiento	9	10	9	9	9	9	10	10	10
	Diámetro halo de inhibición	15	15	14	14	14	19	14	—	—
Gota dentro del pocillo 40 mcl	Diámetro del pocillo	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Diámetro zona de aclaramiento	16	15	16	15	15	13	13	13	13
	Diámetro halo de inhibición	24	24	25	22	22	25	21	—	—
Gota sobre superficie 20 mcl	Diámetro de la gota	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Diámetro zona de aclaramiento	14	14	14	14	14	13	12	13	13
	Diámetro halo de inhibición	21	21	21	21	21	24	22	—	—
Gota sobre superficie 40 mcl	Diámetro de la gota	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Diámetro zona de aclaramiento	16	16	16	16	16	15	14	16	16
	Diámetro halo de inhibición	26	26	25	25	26	30	27	—	—

*Cepas: a.—*S. aureus*, N 106
 b.—*S. aureus*, N 108
 c.—*S. aureus*, II - 2
 d.—*S. aureus*, ATCC 25.178
 e.—*S. aureus*, NCTH 10.657
 f.—*S. pyogenes*, ATCC 19.615
 g.—*C. pyogenes*
 h.—*K. pneumoniae*
 i.—*P. aeruginosa*
 j.—*E. coli*

Todas las medidas son en milímetros.

CUADRO 2
(2-metil-cianocrilato)

		CEPAS*									
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j
Gota dentro del pocillo 20 mc.	Diámetro del pocillo	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Diámetro halo de inhibición	14	13	14	14	13	16	14	10	—	10
Gota dentro del pocillo 40 mc.	Diámetro del pocillo	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Diámetro halo de inhibición	20	20	20	20	19	22	21	12	—	13
Gota sobre superficie 20 mc.	Diámetro de la gota	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Diámetro halo de inhibición	20	20	22	20	19	14	14	9	—	10
	Diámetro anillo de estimulación	16	16	16	15	14	—	—	—	—	—
Gota sobre superficie 40 mc.	Diámetro de la gota	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Diámetro halo de inhibición	23	23	24	23	23	18	18	12	11	13
	Diámetro anillo de estimulación	20	20	19	18	18	—	—	—	—	—

*Cepas: Igual al cuadro 1.
Todas las medidas son en milímetros.

En el caso del 2-metil-cianocrilato, el comportamiento de los restantes gérmenes tratados fue prácticamente igual al de las cepas de *S. aureus*, a excepción de *P. aeruginosa*, en que solamente se observó un pequeño halo de inhibición de 11 mm en el caso de gota de 40 mc sobre superficie.

Respecto al 2-butil-cianocrilato también encontramos amplios halos de inhibición para *S. aureus*, *S. pyogenes* y *C. pyogenes*, mientras que no se constató este efecto para *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *E. coli*.

Prueba «in vivo»

En el cuadro 3 se recogen, para cada grupo experimental, los resultados correspondientes a las medias de temperatura rectales y ganancias o pérdidas de peso observados durante los 7 días de observación clínica siguientes a la intervención, así como las incidencias clínicas observadas durante el mismo período en la herida experimental.

Si bien el estudio estadístico no demuestra diferencias significativas para las temperaturas entre los tres tipos de sutura testados ($F = 0,01$ $p > 0,05$), sí se comprueban diferencias muy significativas entre los diferentes tipos de contaminantes ($F = 6,30$ $p < 0,01$), constatándose una disminución estadísticamente significativa (M.D.S. = $\pm 0,23^\circ\text{C}$) de la temperatura con *S. pyogenes*, *S. aureus*, *C. pyogenes* y *E. coli* y un aumento con *P. aeruginosa* respecto al grupo testigo.

En el estudio de la ganancia o pérdida de peso no se aprecian diferencias significativas entre las suturas ($F = 1,81$, $p > 0,05$), pero sí entre los contaminantes ($F = 4,20$, $p < 0,05$), observándose una disminución del peso estadísticamente significativa (M.D.S. = $\pm 1,42$ g) respecto al grupo testigo con todos los contaminantes, excepto *K. pneumoniae*.

Las incidencias clínicamente observables de la herida experimental son mínimas en todos los grupos experimentales, a excepción de *K. pneumoniae*, en que tanto con 2-metil-cianocrilato como con 2-butil-cianocrilato, se produjeron, en ambos casos, dos dehiscencias de la sutura.

DISCUSION

Nuestros resultados están, en general, en la misma línea de los hallados por WEST, LEHMAN y LEONARD¹⁵, quienes comprueban la inhibición del crecimiento bacteriano en cultivos de *S. aureus* y *E. coli* en caldos nutritivos impregnados en cianocrilatos, si bien en nuestros resultados *E. coli* se muestra resistente frente al 2-butil-cianocrilato. Al igual que ocurre con los resultados obtenidos por AWE, ROBERTS y BRAUNWALD³, con *S. aureus*, *Bacillus spp.*, *E. coli*, *Proteus spp.* y *Pseudomonas spp.*, nuestros resultados señalan una resistencia de *P. aeruginosa* frente al 2-butil-cianocrilato.

CUADRO 3

	SEDA 00			2-metil-cianocrilato			2-butil-cianocrilato		
	A*	B**	C***	A*	B**	C***	A*	B**	C***
	Testigo	37,75	1,46	0	38,41	2,09	1	38,04	1,82
<i>S. pyogenes</i>	37,85	1,10	0	37,46	-1,31	0	37,61	-1,14	1
<i>S. aureus</i>	37,50	-1,73	0	37,74	-0,96	0	37,88	-2,07	0
<i>C. pyogenes</i>	37,84	-2,29	0	37,73	-1,07	0	37,75	0,03	0
<i>E. coli</i>	37,99	-0,89	0	37,72	-2,34	0	37,81	-2,67	0
<i>P. aeruginosa</i>	38,57	1,63	0	38,54	1,06	0	38,29	-2,38	1
<i>K. pneumoniae</i>	38,09	2,02	0	38,01	2,58	2	38,11	-0,39	2

*A.—Temperatura media (°C).

**B.—Ganancia o pérdida de peso (gramos).

***C.—Número de ratones que presentaron dehiscencia de la herida.

De nuestros resultados se deduce que el espectro antimicrobiano es mayor con el 2-metil-cianocrilato que con el 2-butil-cianocrilato. De igual forma, cabe señalar que las bacterias Gram positivas resultan mucho más sensibles que las Gram negativas a ambos adhesivos testados, toda vez que, mientras los dos adhesivos inhiben el crecimiento de todas las bacterias Gram positivas estudiadas, *P. aeruginosa* se mostró resistente a ambos, a excepción de la prueba en gota de 40 mel sobre superficie, donde se observó un pequeño halo de inhibición de 11 mm en el caso del 2-metil-cianocrilato. Asimismo, *E. coli* y *K. pneumoniae* se mostraron resistentes al 2-butil-cianocrilato.

Al igual que LEHMAN, WEST y LEONARD⁹, pensamos que el efecto antimicrobiano puede deberse, al menos parcialmente, a su degradación en derivados formaldehído y cianoacetato.

Respecto a las pruebas «in vivo» pensamos que nuestros resultados no son claramente concluyentes, explicando las dehiscencias encontradas con *K. pneumoniae* al propio hecho de su resistencia a los dos adhesivos testados, siendo en todo caso necesario el replanteamiento de nuevos experimentos con vistas a esclarecer este hecho.

Agradecimientos

Agradecemos al Departamento de Genética de la Facultad de Veterinaria de León la cesión de los ratones empleados para las pruebas «in vivo»; al Hospital Virgen Blanca de León la cesión de las cepas de *E. Coli* y *K. pneumoniae*, y al Departamento de Bromatología de la Facultad de Veterinaria de León la cesión de las cepas de *S. aureus*.

RESUMEN

En el presente trabajo se estudian las propiedades antimicrobianas de dos adhesivos plásticos utilizados en cirugía, tanto «in vitro» como «in vivo» frente a *S. aureus*, *S. pyogenes*, *C. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *K. pneumoniae*, constatándose que el espectro antimicrobiano es mayor con el 2-metilcianocrilato que con el 2-butil-cianocrilato. Asimismo, se observa que las bacterias Gram positivas resultan mucho más sensibles que las Gram negativas con ambos adhesivos.

«ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF RAPIDLY POLYMERIZING ADHESIVES USED IN SURGERY»

SUMMARY

In this work the antimicrobial properties of two polymeric materials for surgical adhesives «in vitro» and «in vivo» as opposed to *S. aureus*, *S. pyogenes*,

C. pyogenes, *P. aeruginosa*, *E. coli* and *K. pneumoniae*, are studied, deducing that the antimicrobial spectrum is larger with the 2-methylcyanoacrylate than the 2-butylcyanoacrylate. I was also observed that the Gram positive bacteria are much more sensitive than the Gram negative ones with both adhesives.

BIBLIOGRAFIA

- 1) ABAD, M.; GONZALO, J. M.; TEJERINA, J. C. D.; DÍAZ-FAES, J.; ANEL, L., y BOIXO, J. C. (1982).—Utilización de sustancias plásticas adhesivas (2-metilcianocrilato) en Cirugía mamaria bovina. Reconstrucción quirúrgica de una herida transversal perforante «cuasi-completa» de pezón. *I Congreso Nacional de Patología Bovina*. León. Octubre 1982. Ed. Lab. Sobrino: 351-365.
- 2) ABAD, M.; TEJERINA, J. C. D.; DÍAZ-FAES, J.; ANEL, L., y BOIXO, J. C. (1983).—Cierre del muñón duodenal en el perro gastrectomizado utilizando sustancias plásticas adhesivas. *Hygia Pecoris* (en prensa).
- 3) AWE, W. C.; ROBERTS, W., y BRAUNWALD, N. S. (1963).—Rapidly polymerizing adhesive as a hemostatic agent: study of tissue response and bacteriological properties. *Surgery*, volumen 54, núm. 2. Agosto 1963: 322-328.
- 4) BALIER, A. N.; KIRBY, W. H.; SHERRIS, J. C., y TURK, M. (1966).—Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. of Clin. Pathol.* 45 (4): 493-496.
- 5) COOVER, H. S. (1957).—Chemistry and performance of cyanoacrylate adhesives. *Soc. Plastic. Engin. J.*, 15: 413.
- 6) DOMÍNGUEZ FERNÁNDEZ-TEJERINA, J. C.; ANEL RODRÍGUEZ, L.; BOIXO PÉREZ-HOLANDA, J. C., y ABAD GAVIN, M. (1983).—Sustancias plásticas adhesivas (2-metilcianocrilato) en el tratamiento quirúrgico de las fístulas de pezón en el ganado vacuno. *Jornadas de Ganado Vacuno* (Hygia Pecoris). Diciembre 1983 (en prensa).
- 7) INOU, T.; YOSHIMURA, K., y FURUKAWA, T. (1961).—Studies on surgical use of plastic adhesive. *Bull 2nd. Surg. Clin. Tokyo Univ. Hosp.*: 1-15.
- 8) KIRKEGAARD, P. (1980).—Experimental nonsuture colonic anastomoses. *Amer. J. Surg.*: 139-233.
- 9) LEHMAN, A. W.; WEST, R. L., y LEONARD, F. (1966).—Toxicity of alkyl 2-cyanoacrylates. II. Bacterial Growth. *Arch. Surg.*, vol. 93, Sept.: 447-450.
- 10) MARTÍNEZ DE LAS HERAS, P. (1972).—*Química y física de los altos polímeros y materias plásticas*. Ed. Alhambra. Madrid.
- 11) SELVERSTRONE, J., y RONIS, N. (1958).—Coating and reinforcement of intracranial aneurysm with resins. *Bull. Tufts. New. Engl. Med. Cent.*: 4-8.
- 12) SNEDECOR, G. W., y COCHRAN, W. G. (1974).—*Métodos estadísticos*. Compañía Editorial Continental, S. A. México.
- 13) THEODORIDES, T. (1974).—Rétablissement des voies biliaires extrahepatiques á l'aide des substances collantes. *Ann. Chir.*, 28: 713.
- 14) VARA, C. (1971).—*Enteroanastomosis con técnicas aninóticas mediante el adhesivo histocryl*. Ed. Seix y Barral. Barcelona.
- 15) WEST, R.; LEHMAN, R., y LEONARD, F. (1966).—Toxicity of alkyl-2-cyanoacrylates. II *Arch. Surg.*: 93: 441.

DEPARTAMENTO DE CIRUGIA Y REPRODUCCION

(Director Prof. Dr. MIGUEL ABAD GAVIN)

RESUMEN DE LA ACTIVIDAD CLINICA (CONSULTA PUBLICA) DEL DEPARTAMENTO DE CIRUGIA Y REPRODUCCION ANIMAL DURANTE LOS CURSOS ACADÉMICOS 1981-82 Y 1982-83

Por M. Abad Gavín
J. M. Gonzalo Cordero
L. González Ovejero
J. C. Domínguez Fdez.-Tejerina
A. Fernández Celadilla
M. A. Orden Recio
A. Alonso Blanco
L. Anel Rodríguez
J. C. Boixo Pérez-Holanda

INTRODUCCION

Como ya es tradicional, el Departamento de Cirugía y Reproducción de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León mantiene año tras año un Servicio Clínico de carácter gratuito y diario donde los alumnos que cursan las asignaturas de Patología Quirúrgica I, Patología Quirúrgica II y Reproducción y Obstetricia entran en contacto con el objeto de las mismas, es decir, con el animal enfermo en estado quirúrgico, o bien en diversos estados reproductivos u obstétricos, tanto fisiológicos como patológicos.

Durante los dos últimos cursos académicos, 1981-82 y 1982-83, en el Servicio Clínico de este Departamento se han atendido un total de 1.806 casos clínicos, de los cuales 1.410 lo han sido directamente en la Consulta Pública de la Facultad (cuadros I y III) y 396 (cuadro VI) en régimen de Clínica Ambulante. De todos ellos, 1.077 (59,6 %) corresponden a pequeños animales y 729 (40,4 %) a grandes animales. También se han atendido durante este período diversas consultas realizadas directamente por profesionales veterinarios.

CONSULTA PUBLICA. PEQUEÑOS ANIMALES

Dentro del grupo de pequeños animales destaca por su mayor frecuencia numérica la especie canina, la cual, tal y como se recoge en el cuadro I, representa el 95,1 % de este grupo.

An. Fac. Vet. León., 1983, 29, 311-316.