



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



**EVALUACION GERMICIDA DE CINCO ANTISEPTICOS
EMPLEADOS EN LOS PEZONES DE BOVINOS**

T E S I S

Presentada Para la obtención del Grado de:
MAESTRA EN CIENCIAS VETERINARIAS

Por:

GENOVEVA AYALA GONZALEZ

Asesores:

M.V.Z. M. Sc. F.R.V.C.S. HEDBERTO RUIZ SKEWES

M.V.Z. M. Sc. SALVADOR AVILA TELLEZ

M.V.Z. JORGE AVILA GARCIA

M.V.Z. Ph. D. MARCELO PEREZ DOMINGUEZ

1990

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

LISTA DE CONTENIDO

Página

I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION DE LA LITERATURA	
A. Etiología de la mastitis.....	4
B. Control de las enfermedades de los animales.....	4
C. Prevención y control de la mastitis bovina.....	5
a) Objetivos del control de la mastitis bovina.....	5
b) Eliminación de infecciones intramamarias	5
i) Nuevas infecciones.....	5
ii) Infecciones persistentes.....	6
D. Historia y evolución de los antisépticos posordeño.....	7
E. Limitaciones del uso de los antisépticos de pezones.....	14
F. Lesiones de los pezones causadas por los antisépticos para los pezones.....	16
G. Clases de productos.....	17
a) Yodóforos.....	17
i) Composición y formulación	17
ii) Modo de acción	17
b) Cuaternario de amonio	18
i) Composición y formulación	18

LISTA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
ii) Modo de acción	19
c) Clorhexidina.....	19
i) Composición y formulación	19
ii) Modo de acción	19
d) Hipoclorito de sodio.....	20
i) Composición y formulación	20
ii) Modo de acción	20
e) Acido dodecil benceno sulfónico (ADBS).....	21
i) Composición y formulación	21
ii) Modo de acción	21
f) Barreras físicas.....	21
i) Composición y formulación	21
ii) Modo de acción	21
H. Emolientes	22
I. Agentes colorantes solubles en agua presentes en los antisépticos	22
J. Agentes espesantes	22
K. Almacenamiento y manejo	23
L. Uso de los antisépticos posordeño en México	24
III) MATERIAL Y METODOS.	
A. Estudio piloto.....	25
a) Aislamiento de microorganismos después de desinfectar los pezones.....	25

LISTA DE CONTENIDO

Página

b)	Dilución del líquido de remoción de las bacterias	26
c)	Determinación de inhibidores en leches comerciales pasteurizadas y en vacas negativas a la prueba de California y sin tratamiento con antibióticos	27
B.	Estudio experimental.....	27
a)	Obtención y preparación de los pezones	27
i)	Obtención de los pezones	27
ii)	Lavado, desinfección y conservación de los pezones.	28
b)	Preparación de la suspensión bacteriana de confrontación.....	28
i)	<u>Escherichia coli</u>	28
ii)	<u>Staphylococcus aureus</u>	29
iii)	<u>Streptococcus agalactiae</u> y <u>Streptococcus dysgalactiae</u>	29
c)	Preparación de las soluciones usadas para recuperar las bacterias después de la aplicación del antiséptico	30
d)	Realización del ensayo	31
IV)	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	33

LISTA DE CONTENIDO

Página

V) RESULTADOS

A. Estudio piloto	35
a) Aislamiento posinmersión de pezones en alcohol etílico al 70%	35
b) Diluciones del líquido de remoción de los microorganismos para lograr una cuenta entre 30 y 300 UFC	35
i) Antiséptico I	35
ii) Antisépticos II y IV	35
iii) Antisépticos III y V	35
iv) Solución de remoción de los microorganismos de los pezones control	36
c) Efecto de la leche pasteurizada en la multiplicación bacteriana	36
i) Leche pasteurizada comercial	36
ii) Leche pasteurizada de vacas negativas a la prueba de California y sin tratar con antibióticos durante 8 días previos a la obtención de la leche en recipientes libres de inhibidores bacterianos	36

LISTA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
B. Estudio experimental	36
a) Reducción logarítmica de la media geométrica de unidades formadoras de colonias (UFC) por microorganismo	36
i) <u>Escherichia coli</u>	36
ii) <u>Staphylococcus aureus</u>	37
iii) <u>Streptococcus agalactiae</u>	37
iv) <u>Streptococcus dysgalactiae</u>	38
b) Reducción logarítmica de la media geométrica de UFC de los microorganismos de prueba cau- sada por cada antiséptico	38
i) I. Cuaternario de amonio (N/alkil dimetil bencil amonio dicloro isocianurato con 35 ppm	38
ii) II. Cuaternario de amonio (N/alkil dimetil bencil amonio dicloro isocianurato con 500 ppm	38
iii) III. Yodóforo (complejo de yodo-etanol dodenil fenoxi polietileno y poli-etoxipoliproxí polietoxi) con un mínimo de 5,000 ppm	39
iv) IV. Yodóforo (complejo yodo alquilfenoxi- polioxietyl en etanol) con 15,000 ppm	39

LISTA DE CONTENIDO

Página

v) V. Yodo fenolado (nonil-fenol-poliglicol eter-yodo-yodóforo) con 51,400 ppm	39
VI) DISCUSION	
A. Efecto de la leche pasteurizada en la multiplicación de las bacterias	40
B. Efecto residual del alcohol	40
C. Unidades formadoras de colonias (UFC) recuperadas de los pezones después de aplicar los antisépticos	43
D. Efectividad de los antisépticos en los pezones ..	43
VII) LITERATURA CITADA	58
VIII) APENDICE	63
IX) CUADROS	64

LISTA DE CUADROS

<u>Cuadro</u>	<u>Página</u>
1. Antisépticos de pezones para inmersión posordeño	64
2. Características de los cinco antisépticos comerciales de pezones para inmersión posordeño evaluados en su acción germicida sobre pezones excididos de vacas de rastro	65
3. Microorganismos usados para probar la eficacia de cinco antisépticos posordeño comerciales aplicados en pezones excididos de vacas de rastro	66
4. Valores logarítmicos, con base 10, de la cuenta de unidades formadoras de colonias de <u>Escherichia coli</u> (20 observaciones) recuperados después del tratamiento con antisépticos comerciales aplicados a pezones excididos de vaca	67
5. Valores logarítmicos, con base 10 de la cuenta de unidades formadoras de colonias de <u>Staphylococcus aureus</u> (20 observaciones) recuperados después del tratamiento con antisépticos posordeño comerciales	68
6. Valores logarítmicos, con base 10 de la cuenta de unidades formadoras de colonias de <u>Streptococcus agalactiae</u> (20 observaciones) recuperadas después del tratamiento con antisépticos posordeño comerciales	69
7. Valores logarítmicos con base 10, de la cuenta de unidades formadoras de colonias de <u>Streptococcus dysgalactiae</u> (20 observaciones) recuperadas después de la aplicación de 100 millones de UFC/mL a pezones excididos de bovino y tratados con cinco antisépticos comerciales	70
8. Efecto de los antisépticos de pezones posordeño sobre el número de UFC de <u>Escherichia coli</u>	71
9. Efecto de los antisépticos de pezones posordeño sobre el número de UFC de <u>Staphylococcus aureus</u>	72
10. Efecto de los antisépticos posordeño de pezones sobre el número de UFC de <u>Streptococcus agalactiae</u>	73

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
11. Efecto de los antisépticos posordeño de pezones sobre el número de UFC de <u>Streptococcus dysgalactiae</u>	74
12. Media geométrica (de 20 observaciones) de la cuenta de UFC de cuatro microorganismos ubre-patógenos tratados con cinco antiséptico comerciales	75
13. Logaritmos de las medias geométricas (de 20 observaciones) de la cuenta de UFC de cuatro microorganismos ubre-patógenos tratados con cinco anti-sépticos comerciales	76
14. Porcentaje de reducción de las medias geométricas de unidades formadoras de colonias (UFC) de cuatro microorganismos ubre-patógenos logrado con cinco antisépticos comerciales	77
15. Reducción logarítmica de cuatro microorganismos ubre-patógenos logrado con cinco antisépticos comerciales.	78
16. Promedio de unidades formadoras de colonias (UFC) de cuatro microorganismos (<u>E. coli</u> , <u>S. aureus</u> , <u>Str. agalactiae</u> y <u>Str. dysgalactiae</u>) recuperados después del tratamiento con cinco antisépticos	79
17. Promedios de unidades formadoras de colonias (UFC) de cuatro microorganismos (<u>E. coli</u> , <u>S. aureus</u> , <u>Str. agalactiae</u> y <u>Str. dysgalactiae</u>) recuperados después del tratamiento con antisépticos comerciales.	80

RESUMEN

GENOVEVA AYALA GONZALEZ. "Evaluación germicida de cinco antisépticos empleados en los pezones de bovinos". (Bajo la dirección del M.V.Z., M.Sc. Hedberto Ruiz Skewes).

Debido a una disminución de la producción láctea de un promedio de 10% causada por la mastitis en el ganado bovino lechero, se llevan a cabo medidas para prevenir esta enfermedad. El empleo de antisépticos posordeño en pezones es una de las medidas más útiles para prevenir y controlar la infección intramamaria. En este trabajo se probó la eficacia de cinco antisépticos posordeño comerciales en pezones excididos de vacas de rastro, con cuatro microorganismos ubre patógenos, dos de los cuales Staphylococcus aureus y Streptococcus agalactiae, han sido comunicados por numerosos investigadores como los aislados con más frecuencia de casos de mastitis en México y en diversos países del mundo. La prueba se realizó ordenando los pezones al azar y utilizando 20 pezones para cada una de las combinaciones de los microorganismos: Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Escherichia coli y Streptococcus dysgalactiae con cada uno de los cinco antisépticos comerciales de los cuales tres fueron yodóforos y dos a base de cuaternarios de amonio. Los resultados se evaluaron a través de las medias geométricas de las unidades formadoras de colonias, con los que se realizó un análisis de varianza utilizando un diseño

factorial en el que se incluyeron los efectos de microorganismo, antiséptico y la interacción entre ambos. De los cinco productos probados, un yodóforo (complejo de yodo-etanol-dedonil-fenoxipoliexietileno y polietoxipoliproxi-poilietoxi) a 5,000 ppm causó una reducción logarítmica de 3.7 para Escherichia coli, 4.5 en Staphylococcus aureus, 3.56 en Streptococcus agalactiae y 3.12 en Streptococcus dysgalactiae, resultando ser el único producto efectivo con la prueba en pezones excididos de vaca, pues se considera que un antiséptico posordeño es efectivo cuando produce una reducción logarítmica >3 en la media geométrica de las unidades formadoras de colonias de determinado microorganismo.

I. INTRODUCCION.

La mastitis (inflamación de la glándula mamaria) ocasiona considerables pérdidas económicas a la industria lechera debido principalmente a: menor producción láctea, desecho prematuro de los animales enfermos aunado a una necesidad de mayor número de reemplazos, costos de servicios médico-veterinarios, tratamientos, mano de obra extra, modificaciones de las propiedades de la leche que impiden su consumo o uso industrial (2,7,17,18,40,47,67,68).

En México, en 1981 se calculó una producción láctea en el ganado bovino especializado de aproximadamente 3.8×10^9 kg, considerando que debido a la mastitis se dejó de producir un 12 por ciento, ésto significaría 4.5×10^8 kg (17).

La mastitis es causada principalmente por las siguientes bacterias: estafilococos, estreptococos y en menor proporción por otros microorganismos (2,3,19,20,35,37,38,39, 55,64,83, 84), éstos son transmitidos por las manos, equipo de ordeño mecánico y camas (78).

La infección intramamaria se puede prevenir con técnicas que impidan la exposición a patógenos, de acuerdo a estudios realizados con un sistema de higiene total para prevenir nuevas infecciones mamarias en las vacas, se usaron toallas individuales para lavar y secar la glándula mamaria, guantes de hule durante el ordeño (desinfectados entre vaca y vaca),

desinfección de las pezoneras e inmersión de los pezones posordeño en una solución antiséptica. Esto redujo considerablemente la frecuencia de mastitis; sin embargo, el sistema no logró gran aceptación debido a que complicaba la práctica del ordeño (53). En investigaciones hechas para determinar el efecto de una o varias de estas actividades se encontró que la inmersión de los pezones en soluciones antisépticas después del ordeño y la aplicación intramamaria de antibióticos durante el periodo de secado redujo el número de nuevas infecciones en aproximadamente un 50 por ciento (30,61,62,71,81). Este método económico y sencillo de realizar, demostró ser muy útil en el control de la mastitis en gran escala y ha sido recomendado por muchos investigadores (4,24,28,32,56,58,60,61,68,71,72,74,76,81,83).

El uso de los antisépticos en pezones posordeño ocasionó la introducción de numerosas preparaciones comerciales; sin embargo, pronto fué aparente que su uso rutinario no reducía las nuevas infecciones en proporción semejante a la comunicada previamente (24,28,45,55). Esto hizo necesario determinar la efectividad de los productos (4,16,23,24,26,29,44,57,58,59,76,77).

Los trabajos iniciales para demostrar la eficacia de esos antisépticos se realizaron en el campo, involucrando un gran número de animales por periodos prolongados de un año o más. Estos trabajos comparaban el número de nuevas infecciones en

los animales de prueba con aquellas en los animales testigos (21,24,34,51,52,58,59,76). Aún cuando éste es el método más exacto para evaluar los antisépticos, el procedimiento es lento y costoso, y esto ha llevado al desarrollo de pruebas de escrutinio más prácticas que se puedan hacer en el laboratorio y que permitan evaluar la capacidad del antiséptico para reducir el número de unidades formadoras de colonias (UFC) colocadas sobre los pezones. El uso de las mismas permite predecir el comportamiento de los antisépticos en condiciones de campo (9,24,58).

El objetivo de este trabajo fue el de determinar con pruebas en el laboratorio si los antisépticos comerciales existentes en el país tienen acción bactericida, midiendo esta capacidad a través de la reducción del número de UFC de *estreptococos*, *estafilococos* y *Escherichia coli* aplicados sobre la piel de pezones excididos de vacas de rastro.

II. REVISION DE LA LITERATURA.

A. Etiología de la mastitis.

La mastitis de importancia económica casi siempre está asociada con una infección bacteriana. Más del 90 por ciento de las mastitis son ocasionadas por: Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae o Streptococcus uberis pero en algunos hatos los coliformes, pseudomonas u otros patógenos pueden causar problemas serios. Una gran variedad de microorganismos (Ej. hongos, micoplasmas) pueden ocasionalmente causar mastitis (28,36,40).

En México las principales bacterias causantes de mastitis bovina encontradas han sido: Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae y en menor proporción otros microorganismos como Escherichia coli (3,37,55).

B. Control de las enfermedades de los animales.

El control de las enfermedades de los animales puede llevarse a cabo en formas diferentes, la estrategia apropiada para alguna enfermedad infecciosa en particular, dependerá de sus características epidemiológicas y de la variación individual dentro de cada grupo (11), su economía y a la vez las restricciones necesarias para mantener la salud pública. La elección adecuada puede ser una política de sacrificio de los animales enfermos como sucedió en México en el brote de fiebre aftosa ó puede cambiar sucesivamente como en la

brucellosis o ser compleja, tal como sucede en la mastitis (19,28). Existen diversas razones por las cuales el control de la mastitis es compleja, pero esto es principalmente debido a que hay varios tipos de agentes causales de enfermedad (2,3,19,35,36,37,38,39,41,49,50,59,84).

C. Prevención y control de la mastitis bovina.

a. Objetivos del control de la mastitis bovina.

Los principales objetivos del control de la mastitis son: reducir las pérdidas económicas causadas por la enfermedad, aumentar la producción láctea (7,17,18) y proteger la salud del consumidor (47) que puede afectarse por los microorganismos y toxinas presentes en la leche (66) originadas por bacterias causantes de las infecciones mamarias o por residuos de antibióticos excretados en la leche derivados del tratamiento de vacas enfermas (1,14,15,33,70,79,85). Esto es de primordial importancia en México en donde hay un elevado consumo de leche sin pasteurizar (66), aunque también sucede con la ingestión de leche pasteurizada (1,14,15,33,70,79,85).

b) Eliminación de infecciones intramamarias.

i) Nuevas infecciones.

En los últimos años, la inmersión o rociado de los pezones con una solución germicida inmediatamente después del ordeño

ha probado ser una técnica de manejo práctica para reducir la tasa de nuevas infecciones. El uso de antisépticos es considerada la práctica más efectiva para prevenir nuevas infecciones en el ganado lechero (53,72,81).

El establecimiento de una nueva infección intramamaria requiere de la penetración de microorganismos causantes de mastitis a través del conducto del pezón y existen muchos factores que influyen la penetración (2). Los investigadores están de acuerdo en que el número y especie de las bacterias presentes en la piel de los pezones tiene una relación directa con el tipo e incidencia de las nuevas infecciones intramamarias. La inmersión de los pezones es una técnica sencilla de realizar, efectiva y económica para reducir la población de bacterias en la piel del pezón y existen numerosas investigaciones de que reduce las nuevas infecciones (46,72,81).

ii) Infecciones persistentes.

El éxito de un programa de control de mastitis depende en gran parte de su capacidad de reducir la duración de las infecciones mamarias, principalmente durante los dos primeros años de lactación (19). La duración de la infección se puede reducir únicamente aumentando el nivel de eliminación de infecciones. Las infecciones no eliminadas espontáneamente son eliminadas con la terapia o cuando las vacas son desechadas. Actualmente la única medida práctica de aumentar

la eliminación de infecciones persistentes es tratando con antibióticos las infecciones clínicas y subclínicas. Esto puede hacerse en vacas secas o lactantes encontradas infectadas por procedimientos de laboratorio u otros medios (19,28).

D. Historia y evolución de los antisépticos posordeño.

Fue Moak (43) en 1916 quien propuso la inmersión de los pezones en aceite de pino con fines antisépticos posordeño (SAP) para reducir la diseminación de Streptococcus agalactiae. Sin embargo, la práctica no fué aceptada ampliamente porque los productos existentes mostraban inefectividad y no existía suficiente evidencia experimental de su eficacia. Fue a finales de 1960 cuando Newbold y Barnum (2,53,74) revivieron el interés por la práctica demostrando que las soluciones antisépticas aplicadas al pezón después del ordeño, reducían la población de estafilococos en el conducto del pezón. Posteriormente Neave et al. (48) evaluaron dos programas de higiene del ordeño, incluyendo la inmersión posordeño y terapia con antibióticos de las vacas con mastitis. Los programas redujeron exitosamente las tasas de infección en más de un 50% en un año (48). La inmersión posordeño fué un componente altamente efectivo de los programas. La eficacia de la técnica fué confirmada en investigaciones de campo en Inglaterra (53) y Nueva York (45) en los cuales un control de mastitis que incluyó la inmersión

de los pezones posordeño, en combinación con la terapia de todas las vacas secas probó su efectividad. Aun cuando la inmersión de los pezones reduce la tasa de infecciones en aproximadamente un 50%, el efecto en el nivel de infección es modesto a corto plazo. Es mas, si se diseñara un programa para prevenir todas las nuevas infecciones, el nivel se reduciría menos de un tercio en el año. Esto explica porqué los ganaderos no observan evidencia temprana del efecto de la inmersión y otras medidas higiénicas en el nivel de infección. A largo plazo, los niveles de mastitis se mantienen reducidos usando métodos preventivos, tales como la inmersión. Para alcanzar una reducción rápida en el nivel de infección, es necesario alterar la duración de las infecciones tratando a los casos de mastitis subclínica. Esto se logra con infusiones intramamarias con antibióticos en el secado.

Los datos citados anteriormente confirman que un programa de inmersión de pezones reduce significativamente la prevalencia de infecciones de la ubre. El valor de la inmersión y otras medidas higiénicas fue determinado en cuatro grandes ensayos. Tres estudios fueron realizados en el National Institute for Research in Dairying (NIRD) en Inglaterra, mientras que el cuarto se llevó a cabo en la Universidad de Cornell en Estados Unidos de Norte America (56).

El primer estudio (MFE-1) involucró a 700-800 vacas en 14 hatos por 12 meses. Siete hatos asignados como grupo control fueron ordeñados sin medidas higiénicas, excepto el lavado de las ubres con agua tibia. En los siete hatos restantes se implementaron "medidas higiénicas completas" que incluían el uso de una solución de clorhexidina al 0.01% para lavar las ubres, una solución de clorhexidina al 0.5% para sumergir los pezones posordeño, toallas de papel para el secado de las ubres y pasteurización de las pezoneras usadas entre vaca y vaca. La disminución de nuevas infecciones en los hatos con higiene completa en comparación con los hatos control fue de 40% para Staphylococcus aureus, 29% para Streptococcus agalactiae, 76% para Streptococcus dysgalactiae y 62% para Streptococcus uberis.

En el segundo estudio (MFE-2) se compararon tres sistemas de higiene usando cerca de 1,000 vacas en 15 hatos. En dos sistemas se utilizaron los mismos métodos usados en el experimento anterior, excepto que con el sistema de higiene completo se usaron guantes de hule lisos, las ubres fueron lavadas con yodóforo al 0.01% y los pezones posordeño sumergidos en una solución de yodóforo al 0.5%. En el sistema de "higiene parcial" se incluían las mismas medidas que en el de "higiene total" excepto que las pezoneras no fueron desinfectadas. Nuevamente la mitad de las vacas fueron tratadas en el secado. La higiene completa redujo las infecciones intramamarias durante la lactación en un 58%,

comparado a un 44% en la higiene parcial. Las diferencias no fueron significativas. Los investigadores concluyeron que la desinfección de los pezones, especialmente la punta de ellos después del ordeño no afectó significativamente las tasas de nuevas infecciones obtenidas a través de las copas de la máquina de ordeño.

El tercer ensayo (MFE-3) involucró mas de 3,500 vacas en 32 hatos durante 3 años. En 16 hatos se empleó la rutina de higiene parcial empleada en MFE-2, excepto que las ubres fueron lavadas en una solución de hipoclorito de sodio al 0.06%. En los otros 16 hatos los pezones fueron sumergidos después del ordeño en una solución de hipoclorito de sodio al 4% pero no se aplicaron otras medidas higiénicas. La desinfección de las copas entre vaca y vaca no se practicó en ninguno de los 32 hatos pero la terapia con antibióticos fue practicada en cada grupo al iniciar el ensayo y todas las vacas fueron tratadas con antibióticos en el secado,

Los niveles de infección con cualquier patógeno disminuyeron de 27 a 7.6% en el grupo con higiene parcial y de 30.8 a 7.5% en el grupo con inmersión de pezones. Las infecciones causadas por Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae y Streptococcus dysgalactiae disminuyeron al menos un 75% en ambos grupos. Las reducciones en el nivel y tasa de infección causada por Streptococcus uberis fueron pequeñas. Los niveles de infección con organismos Gram negativos permanecieron

similares a través del estudio de 3 años. Las diferencias entre higiene parcial y el grupo de inmersión no fueron significativas. Las nuevas tasas de infección para todos los organismos variaron aproximadamente 15 veces en todos los hatos. Las razones para estas variaciones tan amplias fueron posiblemente debidas a diferencias en manejo y ambiente, cepas de organismos, máquinas de ordeño, procedimientos de ordeño y presencia de lesiones en los pezones (56).

El estudio en Cornell involucró 2,000 vacas en 24 hatos y fue básicamente idéntico al MF-3 en diseño y ejecución. Al final de los 3 años el nivel de infección con patógenos causantes de mastitis disminuyó de 28.1 a 7.1% de los cuartos (56). Los hatos con el programa de control de mastitis produjeron 477 kg más de leche por vaca por año de estudio (45). Así mismo, en varias investigaciones subsecuentes se demostró el valor de la inmersión de pezones posordeño (46,53,72,81).

Los beneficios de la inmersión fueron reconocidos por los investigadores y condujeron a su amplia recomendación. Los fabricantes de productos químicos rápidamente se dieron cuenta del potencial económico de los antisépticos para inmersión de pezones y pronto aparecieron en el mercado una gran variedad de ellos. Algunos de éstos productos solo variaban ligeramente de aquellos probados rigurosamente. Sin embargo, otros productores empleaban nuevos antisépticos con pocas pruebas de su efectividad. Algunos de los antisépticos

eran inefectivos y existían otros que aumentaban la tasa de nuevas infecciones (53), por lo que pronto se vió la necesidad de evaluar la eficacia de nuevos antisépticos determinando su capacidad para reducir la incidencia de infecciones naturales en condiciones de campo. Sin embargo, estas pruebas son caras y requieren muchas vacas por un periodo prolongado. Esto condujo al desarrollo de modelos en que se pudiera medir la eficacia de las substancias en el laboratorio. El National Mastitis Council (Consejo Nacional de Mastitis) de los Estados Unidos de Norte América (USA) recomendó tres protocolos:

Protocolo A.

Se recomendó como una prueba de tamizado para medir la actividad germicida de una solución antiséptica posordeño (SAP) sobre la piel del pezón. En éste caso un pezón se debía sumergir en una suspensión bacteriana y después en la SAP bajo estudio. La reducción del número de bacterias era calculado con relación al número de bacterias presentes en pezones controles sumergidas únicamente en la solución bacteriana. Debido a la gran variación en resultados, a las diferentes técnicas usadas por investigadores, condiciones climáticas y diferencias en las vacas, el método se modificó para realizarlo en pezones excididos para minimizar las variables y generar resultados más reproducibles.

Protocolo B.

Describe los procedimientos para determinar la capacidad de la substancia antiséptica para prevenir nuevas infecciones en condiciones de confrontación experimentales. Todos los pezones son confrontados por inmersión en una suspensión de patógenos específicos inmediatamente después de remover la máquina de ordeño. Unos segundos después, dos de los pezones son sumergidos en el antiséptico y los dos restantes sirven como controles no sumergidos. Los pezones seleccionados para tratamiento incluyen uno delantero y otro trasero; ya sea diagonales o lado derecho contra izquierdo. Los pezones son usualmente confrontados en un ordeño por día durante 5 a 7 días.

Protocolo C.

Estandariza los procedimientos para conducir un estudio controlado basado en infecciones naturales bajo condiciones de campo. Usualmente en la mitad del hato todos los pezones son sumergidos en el antiséptico y el resto del hato sirve como control no sumergido. Los grupos tratados son balanceados por edad, fase de lactación y producción. Dos pezones de cada vaca son sumergidos y los dos restantes sirven como controles. Cada vaca sirve como su propio control.

Los resultados de eficacia del protocolo A correlacionan estrechamente con los obtenidos con los protocolos B y C.

El ensayo realizado en muchos de los antisépticos comerciales por medio de esos protocolos y la publicación de hallazgos de dichas investigaciones ha conducido al retiro del mercado de algunos productos inefectivos. Sin embargo, algunos de los productos existentes no han sido ensayados rigurosamente y no reducen las nuevas infecciones como se espera.

La aceptación universal de los antisépticos de los pezones en un programa de control de mastitis hace necesario dar a conocer importantes datos relacionados con su eficacia, efectos dañinos y limitaciones en el uso de los mismos.

E. Limitaciones del uso de los antisépticos de pezones.

Sí bien es cierto que los antisépticos de los pezones previenen muchas nuevas infecciones, la duración de las infecciones persistentes (IP) no se acorta. Estas IP pueden durar por meses o años y la inmersión de los pezones en antisépticos después del ordeño requiere de varios meses antes de que el nivel de infección se reduzca substancialmente. En un estudio realizado por Dodd et al (19) se encontró que una reducción del 50 por ciento de nuevas infecciones solo redujo la mastitis en un 14 por ciento en 12 meses. El impacto de los antisépticos en el nivel de mastitis aumenta con el uso simultáneo de desecho de

los animales con IP y la terapia de las vacas secas. La terapia de todas las vacas secas es una técnica práctica y efectiva como complemento de la inmersión de los pezones en soluciones antisépticas después del ordeño.

Otra limitación es que la protección contra nuevas infecciones no es igual contra todas las bacterias que causan mastitis. Los antisépticos de pezones tienen una efectividad comprobada contra nuevas infecciones causadas por Streptococcus agalactiae y Staphylococcus aureus. Sin embargo, las infecciones debidas a otras especies de estreptococos o coliformes no se reducen tan notablemente (21,53). En la mayoría de los estudios se ha encontrado que los coliformes no se reducen (16,21,40,57,72,81). Esta variación en efectividad probablemente no ha sido debida a la incapacidad de las sustancias germicidas para destruir algunas de las especies bacterianas, sino al modo de transmisión de los patógenos causantes de mastitis. Los microorganismos Streptococcus agalactiae y Staphylococcus aureus son contagiosos y transmitidos de cuartos infectados a no infectados principalmente durante el ordeño.

La epizootiología de otros estreptococos, tales como Streptococcus uberis y Streptococcus fecalis y bacterias coliformes no está bien comprendida. Estas bacterias probablemente llegan al pezón por fuentes ambientales más que por glándulas infectadas (8,57) cuando la actividad

germicida de los antisépticos está disminuida. Las glándulas y pezones, pueden estar muy contaminadas con esos patógenos ambientales cuando las vacas entran a la sala de ordeño y las oportunidades de nuevas infecciones aumentan si las cargas bacterianas no se reducen (53).

F. Lesiones de los pezones causados por los antisépticos para los pezones.

Algunos germicidas incorporados son irritantes. Este problema puede aumentar debido a las sustancias acidificantes o alcalinizantes presentes en el producto de inmersión y puede originarlos el fabricante del producto, deterioro del antiséptico debido a congelación, sobrecalentamiento o estratificación por periodo prolongado sin mezclar.

El uso de soluciones muy ácidas pueden causar lesiones severas en los pezones y predisponer a brotes de mastitis en el hato (53).

En raras ocasiones, productos que no causan daño en un hato lo causan en otro (53)

En climas extremadamente fríos y con temperaturas inferiores a -10°C los antisépticos pueden promover el agrietamiento de los pezones o su congelación (53).

Para minimizar la irritación de los pezones y mejorar el acondicionamiento de la piel, a los antisépticos para los

pezones se les agregan emolientes. Sin embargo, la adición de esas sustancias puede reducir la actividad germicida de los productos (24,53,56,77).

6. Clases de productos.

Los antisépticos de pezones más utilizados se pueden clasificar en seis clases: yodóforos, compuestos de cuaternario de amonio, clorhexidinas, hipoclorito de sodio, ácido dodecil benzeno sulfónico y látex acrílico (barreras físicas).

a) Yodóforos.

i) Composición y formulación.

Un yodóforo es una combinación de yodo y un agente conjugante o molécula transportadora, tal como polaxímeros (Ej. óxido de propileno, polímeros de óxido etileno), compuestos de cuaternario de amonio, detergentes etoxilados y polivinil pirrolidona (27,53). En los yodóforos una porción de la molécula de I_2 se encuentra en equilibrio pero no unida al agente conjugante. El complejo de yodo y yodo libre son las formas activas. Los yodóforos se pueden estabilizar en concentraciones tan bajas como 0.1 por ciento.

ii) Modo de acción.

La formulación de yodóforo destruye microbios por acción química. El yodo quema la bacteria a través de un mecanismo

de oxidación-reducción (53).

b) Cuaternario de amonio.

i) Composición y formulación.

Los antisépticos comerciales con base de cuaternario de amonio generalmente contienen los siguientes ingredientes a diferentes concentraciones (53):

Ingrediente	Concentración	
Emolientes	0	a 10 %
Compuestos de cuaternario de amonio germicidas	0.05	a 1.0 %
Agentes humectantes	0	a 2.0 %
Agentes colorantes que se dispersan en agua	0.0001	a 5.0 %
Amortiguadores	0	a 1.0 %
Agentes espesadores	0.1	a 20.0 %

El cloruro de alquil dimetil bencil amonio y alquil etil bromuro de amonio (haluro cuaternario de amonio) son empleados como germicidas. Un típico cloruro de alquil dimetil bencil amonio es surtido a los productores como una solución etílica al 50 por ciento. El cloruro de alquil dimetil benzil

amonio se vende como una solución al 50 por ciento en alcohol isopropílico. Se pueden formular varios productos de cuaternario de amonio.

ii) Modo de acción.

No se ha probado el modo de acción del compuesto. Entre los mecanismos propuestos se encuentran: desnaturalización de las proteínas; inhibición de la actividad enzimática e interrupción de la permeabilidad de la membrana celular (53).

c) Clorhexidina.

i) Composición y formulación.

La clorhexidina (hexano 1,6-di (4clorofenildiguanido) es uno de los compuestos biguanida con más actividad germicida. Es un producto incoloro, inodoro y moderada o libremente soluble en agua (53). Se han probado concentraciones de 0.2 a 1 por ciento como antisépticos de pezones (24,46), pero en condiciones prácticas se utiliza más frecuentemente al 0.5 por ciento.

ii) Modo de acción.

La clorhexidina es adsorbida rápidamente por la superficie de las células bacterianas (53). La adsorción se aumenta incrementando el pH, esto probablemente es debido a la mayor ionización sobre la superficie celular. En concentraciones bajas (0.01 %) la adsorción es seguida por la pérdida rápida

e irreversible del contenido citoplasmático. Sin embargo, en concentraciones más altas (0.5 %) la pérdida no es evidente y las células permanecen intactas, aumentando la actividad germicida. Las fotomicrografías electrónicas indican que el citoplasma se coagula, posiblemente debido a precipitación de proteínas y ácidos nucleicos.

d) Hipoclorito de sodio.

i). Composición y formulación.

Los antisépticos de pezones que usan el hipoclorito de sodio usualmente son preparados con blanqueadores comerciales a una dilución final del 4 por ciento de hipoclorito de sodio. Los emolientes usualmente no son incluidos con el hipoclorito de sodio debido a problemas asociados (53).

ii) Modo de acción.

El hipoclorito es un potente oxidante, que reacciona fuertemente con las proteínas (53). Este reacciona rápida y destructivamente con las proteínas enzimáticas de las bacterias. En soluciones acuosas el ión hipocloro se encuentra en equilibrio con el ácido hipocloroso que se piensa es la especie molecular germicida (53).

e) Acido dodecil benceno sulfónico (ADBS)

i) Composición y formulación.

Los productos que contienen ese ingrediente, tienen un surfactante aniónico como ingrediente activo con concentraciones de ADBS de aproximadamente 2 por ciento. La solución funciona en un pH bajo y con glicerina u otro emoliente.

ii) Modo de acción.

El mecanismo de acción es completamente desconocido. Entre los posibles mecanismos se encuentran: desnaturalización de las proteínas, inactivación de enzimas esenciales y alteración de la membrana que resulta en modificaciones de la permeabilidad (24).

f) Barreras físicas.

i) Composición y formulación.

El látex y látex acrílico son los productos disponibles que pueden ser usados con desinfectantes o que actúan como barrera física para impedir la entrada de patógenos en la ubre.

ii) Modo de acción.

La barrera física fue utilizada inicialmente para evitar la infección con coliformes. Algunos investigadores sugirieron

que debido a que la infección con coliformes sucedía con más frecuencia entre ordeños y que los antisépticos de los pezones no las impedían, éstas barreras físicas serían útiles (53).

H. Emolientes.

Los emolientes reemplazan algo de las grasas naturales de la piel y humedad perdidas durante el ordeño y ayudan a formar una cubierta protectora sobre la piel. Los más comunmente usados son la lanolina etoxilada y la glicerina.

Otros emolientes convenientes son el miristato isopropílico, palmitato isopropílico u otros similares, propilenglicol u otros derivados del glicol, aceites vegetales, fracciones del petróleo, alcoholes de alto peso molecular, alantoína y otros.

I. Agentes colorantes solubles en agua presentes en los antisépticos.

Los colorantes que se usan deben ser solubles en agua y deben contrastar con el color de la piel.

J. Agentes espesantes.

El agente espesante sirve para darle más cuerpo, una capa que permite que el color sea más notable. Algunos de éstos agentes ayudan a retener agua y acondicionan la piel. Entre las substancias espesadoras se encuentran la goma arábiga, de

tragacanto y de karaya.

Usualmente se acompañan de emolientes, tales como glicerina al 5 ó 6 por ciento (53). Generalmente se agrega un colorante a las preparaciones comerciales para que se pueda ver el antiséptico en los pezones.

K. Almacenamiento y manejo.

El almacenamiento y manejo de los antisépticos para pezones es importante en los programas de control de mastitis. El manejo inadecuado causa serios problemas en los hatos lecheros. Estas sustancias deben ser almacenadas en áreas no sujetas a temperaturas extremas. La congelación de éstas sustancias puede causar la separación de los componentes, ésto causa dos serios problemas: reducen la eficacia del producto posiblemente debido a la inactivación de los agentes germicidas, o la acidificación de porciones puede lesionar los pezones y esto aumentar la tasa de infección. Algunos antisépticos se pueden dañar por temperaturas elevadas debido a que los ingredientes germicidas se evaporan y la eficacia se reduce.

En la actualidad son muy numerosos los antisépticos de pezones (Cuadro 1). En el cuadro 2 aparece la lista de productos que se usan en México.

L. Uso de los antisépticos posordeño en México.

El uso de los antisépticos posordeño en México es una práctica común en las explotaciones lecheras. Sin embargo, con su aplicación acompañada de otros procedimientos de manejo tales como el tratamiento con antibióticos de las vacas al finalizar el periodo de lactación no se han reducido el número de infecciones intramamarias en la proporción comunicada por otros investigadores*. Esto entre otras causas posiblemente se debe a la ineficacia de algunos de los productos comerciales actualmente usados.

De la información revisada se desprende que existen muchas interrogantes sobre la efectividad de los antisépticos posordeño en la reducción de nuevas infecciones, motivo por el cual fue necesario estudiar la efectividad de los antisépticos comerciales de pezones.

* M.V.Z. Avila, G. J. Comunicación personal.

III. MATERIAL Y METODOS.

A. Estudio piloto.

El estudio piloto se realizó para determinar qué tipo de microorganismos se encontraban presentes como contaminantes después de desinfectar los pezones con alcohol etílico, para saber si había crecimiento bacteriano después de aplicar el antiséptico a los pezones excididos y determinar a qué dilución de líquido de recuperación se podían obtener placas con UFC contables (30 a 300) y si en leches comerciales pasteurizadas o provenientes de vacas negativas a la prueba de California y cuyo dueño aseguraba que no habían sido tratadas con antibióticos durante los últimos 15 días, se encontraban residuos de ellos que inhibieran el crecimiento bacteriano en la leche que serviría de líquido de suspensión de los microorganismos.

a) Aislamiento de microorganismos después de desinfectar los pezones.

Para saber qué tipo de bacterias se encontraban en los pezones inmediatamente y a los 60 minutos después de aplicar alcohol etílico al 70 por ciento como desinfectante se tomaron con hisopos estériles muestras de la superficie y meato del pezón. Posteriormente se hizo una siembra en cajas dobles de agar triptosa sangre incubándolas durante 24 horas y se hicieron tinciones de Gram y pruebas bioquímicas para determinar la especie bacteriana presente.

b) Dilución del líquido de remoción de las bacterias.

Al aplicar el procedimiento para lavado de los pezones recomendado por el National Mastitis Council después de aplicar los antisépticos para ver el efecto de ellos sobre el número de UFC se encontró que en algunos casos el número de UFC era incontable. Por tanto, luego de remover los microorganismos sobrevivientes agitando los pezones en 30 mL de solución salina fisiológica para el caso de Staphylococcus aureus y Escherichia coli y en solución amortiguadora de fosfatos con pH de 7.2 para Streptococcus agalactiae y Streptococcus dysgalactiae, fué necesario hacer diluciones de este líquido de recuperación así: 1×10^{-1} para Escherichia coli y Staphylococcus aureus y 1×10^{-2} para Streptococcus agalactiae y Streptococcus dysgalactiae en el caso del antiséptico I (cuaternario de amonio con 35 ppm); 1×10^{-1} para Escherichia coli y Streptococcus agalactiae y 1×10^{-2} para Staphylococcus aureus y Streptococcus dysgalactiae en el caso de los antisépticos II y IV (cuaternario de amonio con 500 ppm y yodoforo con 15,000 ppm) respectivamente para obtener placas con 30 a 300 UFC. El líquido de remoción de los pezones control requirió una dilución de 1×10^{-2} para Escherichia coli y Staphylococcus aureus y de 1×10^{-3} para los estreptococos, diluciones muy similares a las recomendadas por el NMC. (1×10^{-4}).

c) Determinación de inhibidores en leches comerciales pasteurizadas y en vacas negativas a la prueba de California y sin tratamiento con antibióticos.

Para determinar si la leche comercial pasteurizada no contenía inhibidores del crecimiento bacteriano se usaron como medio de dilución de las bacterias de prueba dos tipos de leche (5 muestras de cada una), la primera proveniente de vacas sin tratamiento con antibióticos y prueba de California negativa que fue descremada centrifugandola a 2000 x G durante 10 minutos y después pasteurizada a 60°C en baño María durante 15 minutos y una leche comercial pasteurizada y homogenizada.

B. Estudio experimental.

Las técnicas usadas son básicamente las descritas por Philpot et al. (57) y Hall y Yordy (29).

a) Obtención y preparación de los pezones.

i) Obtención de los pezones.

Se excidieron 600 pezones al nivel de la cisterna de la glándula mamaria de vacas sacrificadas en los rastros de ciudad Netzahualcoyotl (n 100) y los Reyes (n 100), Estado de México y de Ferrería (n 400) en el Distrito Federal; éstos fueron colocados en bolsas de plástico y transportados en cajas de poliuretano con refrigerante al Laboratorio de Bacteriología del Departamento de Producción Animal Cerdos de

la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la
U.N.A.M.

ii) Lavado, desinfección y conservación de los
pezones.

En el laboratorio se lavaron todos los pezones con agua de la llave y se desecharon 120 que tenían grietas y/o erosiones. Los restantes se desinfectaron sumergiéndolos en alcohol etílico al 70 por ciento (v/v) durante cinco minutos y se guardaron en grupos de cinco en bolsas de polietileno estériles en congelación a -20°C hasta el momento de su utilización.

b.. Preparación de la suspensión bacteriana de confrontación.

Las cepas de bacterias patógenas fueron: Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae (cepa 194)¹, Streptococcus dysgalactiae (cepa 338)¹, y Escherichia coli aislados de casos de mastitis bovina usando las técnicas descritas por Brown et al. (10).

i) Escherichia coli.

Con una colonia de un cultivo fresco de 24 horas en agar tripticasa soya (TSA) se inocularon 3 tubos con 6 mL de

1 Donados por el Departamento de Bacteriología de la F.M.V.Z., U.N.A.M.

infusión cerebro corazón (ICC)² los cuales se incubaron a 37°C durante 2 horas en baño María. Después de ésta corta incubación, se transfirieron 0.5 mL de la suspensión a 10 mL de ICC e incubaron por 7 horas a 37°C. Posteriormente, se tomaron 0.5 mL del medio para inocular 200 mL de ICC que fueron incubados a 37°C en un baño María oscilante³ a 100 oscilaciones por minuto durante 6 horas.

ii) Staphylococcus aureus.

Con 6 colonias de un cultivo de 24 horas en agar tripticasa soya⁴ con sangre de ternero al 5 por ciento de la cepa de Staphylococcus aureus se inocularon 30 mL de ICC, los cuales se colocaron en una incubadora oscilatoria a 37°C durante 12 horas a 100 oscilaciones por minuto. Después se transfirieron 25 mL a 100 mL de ICC e incubaron a la misma temperatura en el mismo aparato durante 6 horas.

iii) Streptococcus agalactiae y Streptococcus dysgalactiae.

Ocho colonias de estreptococos obtenidas de un cultivo de 24 horas en placas de agar tripticasa soya fueron inoculadas en 30 mL de ICC e incubadas durante 20 horas a 37°C en un baño María oscilatorio a 100 oscilaciones por minuto. De aquí se transfirieron 25 mL a 100 mL de ICC los cuales fueron cultivados a 37°C durante 14 horas en el baño María citado.

2 DIFCO, Laboratories. Detroit, Michigan. U.S.A.

3 Forma Scientific. M. Ohio, U.S.A.

4 Número 10886. Merck de México, S.A.

Los microorganismos fueron empaquetados centrifugando el medio con bacterias a 3,000 rpm durante 10 minutos, después se colectó el sobrenadante, se esterilizó y desecho. El sedimento fué lavado dos veces con solución salina fisiológica (SSF) en el caso de Escherichia coli y de Staphylococcus aureus y con solución amortiguada de fosfatos con pH de 7.2 (13) para el caso de Streptococcus agalactiae y Streptococcus dysgalactiae, ésto con el fin de resuspender a los microorganismos en su volúmen original anterior al lavado. Posteriormente se hicieron diluciones décuples con SSF (Escherichia coli y Staphylococcus aureus) y con solución amortiguada de fosfatos (estreptococos). De las diluciones 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} se tomaron 0.1 mL y se sembraron en placas dobles de tripticasa soya agar conteniendo 5 por ciento de sangre de ternero. Después de 24 horas de incubación a 37°C las colonias fueron contadas y calculada la concentración bacteriana en la suspensión celular. De ésta cuenta se determinó la dilución con leche homogeneizada y pasteurizada (procedente de vacas sin tratamiento con antibióticos) para preparar una solución de confrontación conteniendo 1×10^8 UFC/mL. La solución de confrontación se preparó inmediatamente antes de usarse y se mantuvo a 5°C entre ensayos en el mismo día, agitándose periódicamente para mantener las células en suspensión.

c) Preparación de las soluciones para recuperar las bacterias después de la aplicación del antiséptico.

Para el caso de Escherichia coli y Staphylococcus aureus se usó SSF y para Streptococcus agalactiae y Streptococcus dysgalactiae un amortiguador de fosfatos con pH 7.2 (13).

d) Realización del ensayo.

La prueba se realizó usando 20 pezones tomados al azar de los 480 seleccionados de acuerdo a lo señalado en el cuadro número 3.

Las bolsas conteniendo los pezones fueron colocadas en agua tibia hasta su descongelación. Posteriormente los pezones fueron sumergidos 5 minutos en alcohol etílico al 70 por ciento (v/v) y secados con toallas de papel desechable estériles.

Para evitar la acción residual del alcohol los pezones se colocaron durante 60 minutos a 15 cm de los mecheros después de lo cual fueron suspendidos con un gancho de un tubo colocado entre dos columnas de metal a 25 cm de altura. Posteriormente se sumergieron 8 mm de los pezones secos en la suspensión bacteriana de confrontación permitiendo que drenaran durante 1 minuto. Después se aplicó a cada pezón el antiséptico de prueba contenido en un recipiente estéril (uno para cada pezón), permitiéndose el drenado por 5 minutos. Los microorganismos se removieron agitando los pezones constantemente durante un minuto en 30 mL de SSF para Escherichia coli y Staphylococcus aureus y con solución

amortiguada de fosfatos con pH 7.2 (13) para los estreptococos.

Del líquido de remoción de los microorganismos se inocularon 0.1 mL en placas de Manitol Sal Agar⁵ (MSA) para aislamiento de Staphylococcus aureus, TKT⁶ para Streptococcus agalactiae y Streptococcus dysgalactiae y Mc Conkey⁷ para Escherichia coli.

El líquido de remoción de los microorganismos de los pezones controles requirió una dilución de 1×10^{-4} para Escherichia coli y Staphylococcus aureus y de 1×10^{-3} para Streptococcus agalactiae y Streptococcus dysgalactiae antes de hacer el sembrado para obtener placas con UFC contables.

Con el antiséptico I se utilizó la dilución 1×10^{-1} para Escherichia coli y Staphylococcus aureus y 1×10^{-2} para los estreptococos.

Para los antisépticos II y IV la dilución utilizada para Escherichia coli y Streptococcus agalactiae fué 1×10^{-1} y para Staphylococcus aureus y Streptococcus dysgalactiae fué 1×10^{-2} .

El líquido de remoción de los microorganismos probados con los antisépticos III y V, no requirió diluirse.

5 Número 5404. Merck de México, S.A.

6 Preparado según Carter (12).

7 Número 5465. Merck de México, S.A.

IV. ANALISIS ESTADISTICO.

Con el objeto de uniformizar las variables entre tratamientos, la variable unidades formadoras de colonias (UFC) se transformó a logaritmos con base 10 (75). Con los datos se hizo un análisis descriptivo de la cuenta bacteriana expresada en UFC con los que se obtuvo la media, desviación estandar, mínima y máxima para cada combinación de antiséptico-microorganismo con el paquete estadístico para ciencias sociales SPSS^B. Con los datos transformados se realizó un análisis de varianza utilizándose un diseño factorial en el que se incluye el efecto del microorganismo, del antiséptico y de la interacción entre ambos efectos. Los resultados obtenidos para las medias en los diferentes tratamientos se transformaron con antilogaritmos dando como resultado las medias geométricas (25,75) que se usan comunmente en este tipo de experimentos. Para cada combinación microorganismo-antiséptico hubo 20 repeticiones (Cuadro 3).

^B SPSS. McGraw Hill, Inc., New York, U.S.A. (UNAM).

Modelo:

$$Y_{ijk} = M + B_i + D_j + BD_{ij} + e_{ijk}$$

$$i = 1, \dots, 4$$

$$j = 1, \dots, 6$$

$$k = 1, \dots, 20$$

m = media general para ese antiséptico

en donde:

B_i = efecto del i - ésimo tipo de bacterias

D_j = efecto del j - ésimo antiséptico

BD_{ij} = interacción bacteria-antiséptico

e_{ijk} = error aleatorio

V. RESULTADOS.

A. Estudio piloto.

a) Aislamientos posinmersión de pezones en alcohol etílico al 70 por ciento.

En 70 por ciento de las muestras del interior del pezón se aislaron un promedio de 2 UFC de Bacillus sp., en el 20 por ciento Micrococcus sp. y en el 15 por ciento Staphylococcus epidermidis.

En el 15 por ciento de las muestras de alrededor del pezón se encontro un promedio de 2 UFC de Bacillus sp.

b) Diluciones del liquido de remoción de los microorganismos para lograr una cuenta de entre 30 y 300 UFC.

i) Antiséptico I.

Fue necesario hacer diluciones 1×10^{-1} para Escherichia coli y Staphylococcus aureus y 1×10^{-2} para Streptococcus agalactiae y Streptococcus dysgalactiae.

ii) Antisépticos II y IV.

Se necesitaron diluciones de 1×10^{-1} para Escherichia coli y Streptococcus agalactiae y 1×10^{-2} para Staphylococcus aureus y Streptococcus dysgalactiae.

iii) Antisépticos III y V.

No se requirió diluir la solución de remoción de los microorganismos, porque el crecimiento bacteriano era entre 30-300 UFC.

iv) Solución de remoción de los microorganismos de los pezones control.

Requirió una dilución de 1×10^{-4} para Escherichia coli y Staphylococcus aureus y de 1×10^{-3} para los estreptococos.

c) Efecto de la leche pasteurizada en la multiplicación bacteriana.

1) Leche pasteurizada comercial.

No permitió el crecimiento bacteriano.

ii) Leche pasteurizada de vacas negativas a la prueba de California y no tratadas con antibióticos durante ocho días previos a la obtención de la leche en recipientes libres de inhibidores bacterianos.

La leche permitió el crecimiento de las bacterias inoculadas que no fueron inhibidas por el antiséptico de prueba.

B. Estudio experimental.

a) Reducción logarítmica de la media geométrica de unidades formadoras de colonias (UFC) por microorganismo.

i) Escherichia coli.

El yodóforo con 5,000 ppm fue el antiséptico que produjo una reducción logarítmica de 3.7, el yodo fenolado con 51,400 ppm redujo 2.39, el cuaternario de amonio con 35 ppm causó una reducción de 0.78, el yodóforo con 15,000 ppm redujo un 0.67 y por último el cuaternario de amonio con 500 ppm causó una reducción de 0.63 (Cuadros 8 y 15).

ii) Staphylococcus aureus.

El yodóforo con un mínimo de 5,000 ppm logró una reducción logarítmica de 4.5, el yodo fenolado con 51,400 ppm produjo una reducción 2.52, el cuaternario de amonio con 35 ppm redujo 1.04, el cuaternario de amonio con 500 ppm causó una reducción de 0.86 y el yodóforo con 15,000 ppm redujo en 0.42 (Cuadros 9 y 15).

iii) Streptococcus agalactiae.

El yoduro con un mínimo de 5,000 ppm alcanzó una reducción logarítmica de 3.56, el yodo fenolado con 51,400 ppm tuvo una reducción de 1.97, el cuaternario de amonio con 500 ppm causó una reducción de 1.37, el yodóforo con 15,000 ppm redujo en 1.36 y finalmente el cuaternario de amonio con 35 ppm tuvo una reducción de 0.78 (Cuadros 10 y 15).

iv) Streptococcus dysgalactiae.

El yodóforo con 5,000 ppm logró una reducción de 3.12, el yodo fenolado con 51,000 ppm redujo en 1.38, el cuaternario de amonio con 500 ppm tuvo una reducción de 0.98, el yodóforo con 15,000 ppm causó una reducción de 0.93 y el cuaternario de amonio con 35 ppm redujo en 0.67 (Cuadros 11 y 15).

b) Reducción logarítmica de la media geométrica de UFC de los microorganismos de prueba causada por cada antiséptico.

i) I. Cuaternario de amonio (N/alkil dimetil bencil amonio dicloro isocianurato) con 35 ppm.

Produjo una reducción logarítmica de 0.78 de Escherichia coli, de 1.04 de Staphylococcus aureus, 0.78 de Streptococcus agalactiae y 0.67 de Streptococcus dysgalactiae. Con una media de 0.81 para las cuatro bacterias estudiadas (Cuadro 15).

ii) II. Cuaternario de amonio (N/alkil dimetil bencil amonio dicloro isocianurato) con 500 ppm.

Causó una reducción logarítmica de 0.63 de Escherichia coli, 0.86 de Staphylococcus aureus, 1.37 de Streptococcus agalactiae y 0.98 de Streptococcus dysgalactiae y con una media de 0.96 para los cuatro microorganismos estudiados (Cuadro 15).

iii) III. Yodóforo (complejo de yodo-etanol-dodencil fenoxipoliexietileno y polietoxipoliproxi-polietoxi) con un mínimo de 5,000 ppm.

El producto causó una reducción logarítmica de 3.7 en Escherichia coli, 4.5 en Staphylococcus aureus, 3.56 en Streptococcus agalactiae y 3.12 en Streptococcus dysgalactiae, dando un promedio de 3.72 para los cuatro microorganismos estudiados (Cuadro 15).

iv) IV. Yodóforo (complejo yodoalquilfenoxipolioxietilenetanol, yodo utilizable 1.75 por ciento) con 15,000 ppm.

Produjo una reducción logarítmica de 0.67 en Escherichia coli, 0.42 en Staphylococcus aureus, 1.36 en Streptococcus agalactiae y 0.93 en Streptococcus dysgalactiae con un promedio de 0.84 para las cuatro bacterias estudiadas (Cuadro 15).

v) V. Yodo fenolado (Nonil-fenol-poliglicol-éter-yodo-yodóforo) con 51,400 ppm.

El producto logró una reducción logarítmica de 2.39 en Escherichia coli, 2.52 en Staphylococcus aureus, 1.97 en Streptococcus agalactiae y 1.38 en Streptococcus dysgalactiae y con un promedio de 2.0 para los microorganismos estudiados (Cuadro 15).

VI. DISCUSION.

A. Efecto de la leche pasteurizada en la multiplicación de las bacterias.

Al resuspender los microorganismos en la leche pasteurizada comercial y pasteurizada en el laboratorio usada como medio de dispersión de las bacterias para su posterior aplicación a los pezones excididos se encontró que no era posible recuperar ninguno de los microorganismos inoculados. Esto se atribuyó a la presencia de inhibidores bacterianos en la leche, originados por el tratamiento con antibióticos de los animales enfermos de mastitis, contaminación de la leche con inhibidores presentes en el equipo de ordeño o tanques de almacenamiento de la leche o la adición de ellos directamente a la leche. Se han encontrado inhibidores en leches pasteurizadas y broncas en la zona metropolitana del Valle de México (54,70,79,85) y puerto de Veracruz (33).

La ulterior utilización de leche de vacas negativas a la prueba de California y no tratadas con antibióticos durante 8 días previos a la obtención de la leche, vertida en recipientes libres de inhibidores permitió el crecimiento de las bacterias inoculadas.

B. Efecto residual del alcohol.

Cuando se permitía que el alcohol etílico al 70 por ciento utilizado para desinfectar los pezones excididos ejerciera su

acción durante 5 minutos, dejándose secar durante otros 5 minutos, inhibía totalmente la multiplicación de los microorganismos de prueba, esto posiblemente fue debido a su acción residual. Fuentes¹ menciona que el alcohol etílico al 70 por ciento tiene una acción residual de 60 minutos. El NMC sugiere la inmersión de los pezones excididos en alcohol etílico al 70 % y posteriormente su secado, no menciona el tiempo (53). En éste trabajo se encontró que es muy importante dejar secar los pezones excididos después de aplicar el alcohol por 60 minutos para evitar la acción residual bactericida del alcohol, tal como se menciona anteriormente. Price (65) en 1950 encontró que la bacteria Escherichia coli requería una exposición de 5 minutos en alcohol al 60 % para morir, Staphylococcus aureus un tiempo similar con alcohol al 70-80% y Staphylococcus epidermidis no murió después de 10 minutos con ninguna concentración de alcohol. Sieling y Gould (73) encontraron que la acción del alcohol varía con su poder de penetración en los diferentes tejidos animales y que era casi imposible esterilizar la piel. Actualmente se sabe que existen en la piel dos tipos de flora bacteriana: una transitoria y otra residente. Las bacterias transitorias están unidas laxamente a substancias lipóideas y la residente está localizada profundamente en la piel. Lo mejor que uno puede realizar con la desinfección con alcohol es reducir el número de organismos viables o destruir

¹ Fuentes, H. V. Comunicación personal.

los organismos patógenos transitorios en la piel. Evans et al., (25) en 1980 encontraron que la aplicación de alcohol en 15 individuos eliminó la flora transitoria en 60 segundos pero en otros 10 individuos con una flora residente abundante se encontraron bacterias viables y su número no correlaciono con el de la flora transitoria. Después de frotar la piel con alcohol se pudieron demostrar bacterias residentes en uno de cada 5 individuos estudiados. Es posible que las bacterias residentes se encuentren profundamente en la piel o protegidas por sustancias que impiden o interfieren la acción bactericida del alcohol (25).

Durante la última década del siglo pasado se halló que era necesaria la presencia de agua en el alcohol para que este tuviera una acción más efectiva. También surgió la errónea impresión de que el alcohol es un desinfectante pobre porque no mataba rápidamente a los microorganismos. Harrington y Walker (31) en 1903 hicieron cultivos de microorganismos presentes en hilos húmedos y secos expuestos a varias concentraciones de alcohol. La bacteria Escherichia coli presente en hilos húmedos murió en menos de 5 minutos cuando fue expuesta a alcohol con una concentración entre 60 y 90%, mientras que las presentes en hilos secos necesitaron >5 minutos y concentraciones de alcohol entre el 50 y 60%. La concentración de 94 a 99% no mataba a Escherichia coli y Pseudomona aeruginosa. Los Staphylococcus epidermidis y Staphylococcus aureus necesitaron una exposición de 24 horas

cuando los organismos estaban en hilos secos.

C. Unidades formadoras de colonias (UFC) recuperadas de los pezones después de aplicar los antisépticos.

Al seguir la técnica de lavado de los pezones recomendada por el NMC después de aplicar los antisépticos para ver el efecto de ellos sobre el número de UFC se encontró que en algunos casos el número de UFC era incontable. Esto se atribuyó a la ineficacia de los antisépticos.

Usualmente los productos efectivos no requieren dilución y una prueba preliminar de recuperación de microorganismos a partir de los pezones ayudará a determinar las diluciones requeridas (Protocolo A del NMC).

D. Efectividad de los antisépticos en los pezones.

Cuatro de los cinco antisépticos ensayados se consideraron inefectivos porque no produjeron una reducción logarítmica >3 en su media geométrica en el ensayo con pezones excididos, ésto pudo deberse a que los productos no tenían la concentración adecuada de principio activo o a que el vehículo viscoso que contenían inhibía la acción del antiséptico.

En investigaciones realizadas en condiciones de campo se ha encontrado que para que un antiséptico se considere efectivo, éste debe reducir ≥ 50 % las nuevas infecciones con

microorganismos Gram positivos. Las infecciones producidas por gérmenes Gram negativos no se previenen con éstos antisépticos (24).

En la etiqueta los productos I y II (cuaternario de amonio) tenían concentraciones de antisépticos menores a las recomendada por el NMC, el III (yodóforo) contenía la concentración adecuada y el IV y V (yodóforo y yodo fenolado) cantidades superiores a las apropiadas.

La solución antiséptica de yodóforo conteniendo 51,400 ppm de yodo, muy superior a la de 5,000 ppm usualmente recomendada (24,48) fue inefectiva. Esto posiblemente se debió a que mientras más concentrada sea la solución de yodóforo menos yodo libre contiene y por tanto tiene menor poder desinfectante (6). En solución acuosa el yodóforo forma agregados micelares que se dispersan en dilución con agua y la unión del yodo al portador se debilita progresivamente. Cuando la dilución excede la concentración micelar mínima, el yodo se encuentra en solución acuosa simple. Por medio de la acción del portador y la formación de agregados micelares la concentración de yodo libre disponible (en forma de I_2 , HOI y I_3^-) en la solución acuosa disminuye.

También es probable que el vehículo emoliente, surfactante, modificador de la viscosidad o colorante usado en la preparación antiséptica impidiera su acción germicida ya que pueden interferir con las propiedades germicidas de los

compuestos del antiséptico (24,53,56,77).

Se ha encontrado que el tipo de base o portador utilizado en los antisépticos posordeño afecta la eficacia de los mismos (24). Los productos oleosos son ineficaces para prevenir infecciones mamarias (24). Los emolientes usados en los antisépticos posordeño para evitar irritación o cuarteaduras también afectan la actividad del producto. La adición de glicerina o lanolina al 10 % resulta en una disminución de la eficacia de los yodóforos pero no del sodio dicloro-S-triazene (24). La adición de glicerol a antisépticos conteniendo hipoclorito redujo la actividad de los productos (39). La lanolina al 2 a 4 % en hipoclorito de sodio no se acompañó de una disminución de la efectividad (24). Turck et al, (77) encontraron que la adición de glicerina o propilenglicol en cantidades hasta 10 % (v/v) disminuían la actividad antibacteriana en un 15 a 33 % de las aminas alquil terciarias (N-N-dimetildodecamina). Se han recomendado como vehiculos emolientes los siguientes: lanolina etoxilada, glicerina, palmitato isopropílico, propilenglicol, aceites vegetales o alcohol de alto peso molecular (NMC). Sin embargo, no existe información suficiente para evaluar el efecto de esos vehiculos como inhibidores de la acción bactericida (53).

El método de aplicación del antiséptico también puede afectar la eficacia del mismo. En estudios de campo se ha encontrado que la aplicación de yodóforos con nebulizador es más eficaz

para prevenir las infecciones. Sin embargo, con ese método es común que los ordeñadores con prisa o incompetentes solo cubran parte de los pezones (24), haciendo el procedimiento inefectivo.

El producto yodoforado más efectivo contenía 5,000 ppm y el vehículo polivinil pirrolidona. El antiséptico liberaba fácilmente yodo y tenía un transportador efectivo.

Los portadores usualmente son polímeros neutros, principalmente polivinilpirrolidona o polietilenglicol (también alcoholes polivinílicos y polioxialquilenos) que mejoran las propiedades humectantes de la solución usada y ayudan en la penetración en materia orgánica y en la emulsificación de la grasa. Existen otros polímeros como los alcoholes poliéter que también son vehículos efectivos y que tienen el mismo efecto que el yodóforo yodo-povidone (polivinil pirrolidona) (6).

El yodóforo en concentración de 5,000 ppm fue efectivo, esto es muy similar a lo encontrado por otros investigadores (24,46,51,57,58,74) quienes han demostrado que en esa concentración el yodóforo es un antiséptico efectivo contra Staphylococcus aureus y Streptococcus agalactiae, dos de los patógenos más comunes causantes de mastitis, así como otras bacterias vegetativas, hongos, virus y esporas bacterianas.

Weltzel (80) en 1935 encontro que el cloruro de alkil dimetil benzil amonio al 0.1 por ciento fue efectivo como antiséptico. White et al, (82) en 1938 encontraron que el cloruro de alkil dimetil benzil amonio era un buen antiséptico para reducir la incidencia de infecciones cuando era usado antes de la cirugía. Sin embargo, Miller et al, (42) en 1943 demostraron que los cuaternarios de amonio aplicados a la piel formaban una capa residual continua debajo de la cual las bacterias sobrevivian. Blank y Coolidge en 1950 (5) especularon que los fosfolípidos presentes en la superficie de la piel inhibian la acción antimicrobiana de los cuaternarios de amonio.

VII. LITERATURA CITADA.

1. Amin, M.M., Smith, A.R., Anderson, K.L., Hahn, E.C. and Gustafsson, B.K.: Evaluation of a surfactant mixture C316 as a teat dip by a modified excised teat model. J. Dairy Sci., **67**: 421-426 (1984).
2. Avila, T.S.: Producción intensiva de ganado lechero. 1a. ed. Compañía Editorial Continental, S.A. Mexico, 1984.
3. Barajas, R.J.A.: Diagnóstico bacteriológico y sensibilidad a quimioterapéuticos de casos de mastitis bovina en el CNEEIZ de la FMVZ de la UNAM. Memorias del 1er. Curso de Actualización sobre mastitis bovina. México, D.F. 1978. 41-69. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. Mexico, D.F. (1981).
4. Barnum, D.A., Johnson, R.E. and Brooks, B.W.: An evaluation of a teat dip with dodecyl benzene sulfonic acid in preventing bovine mammary gland infection from experimental exposure to Streptococcus agalactiae and Staphylococcus aureus. Can. Vet. J., **23**: 50-54 (1982).
5. Blank, I.H. and Coolidge, M.H.: Degerming the cutaneous surface. I. Quaternary ammonium compound. J. Inv. Dermatol. **15**: 249-256 (1950). In Block, S.S.: Disinfection, esterilization and preservation. 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.

6. Block, S.S: Disinfection, esterilization and preservation. 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.
7. Blosser, T.H.: Economic losses from the National Research program on mastitis in the United States. J. Dairy Sci., 62: 119-127 (1979).
8. Bramley, A.J., Godinho, K.S. and Grindal, R.J.: Evidence of penetration of the bovine teat duct by Escherichia coli in the interval between milkings. J. Dairy Res., 48: 379-386 (1981).
9. Bramley, A.J. and Hogben, E.M.: Use of Lyophilized skin for testing the bactericidal activity of teat desinfectans. J. Dairy Res., 50: 3-8 (1983).
10. Brown, R.W., Morse, G.E., Newbold, F.H.S. and Slanetz, L.W.: Microbiological procedures for the diagnosis of bovine mastitis. National Mastitis Council. Washington.D.C., 1969.
11. Burrows, W.: Tratado de microbiologia. 19a ed. Interamericana. México, 1969.
12. Carter, G.R.: Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology. 3rd. ed. Charles C. Thomas Publisher. Springfield Illinois, 1979.

13. Cruickshank, P., Marmion, B.F., Duguid, J.F. and Swain, R.H.A.: Medical microbiology. 12th. ed. vol 2. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1975.
14. Cruz, A.M., Pérez, D.M. Velázquez, Q.F. y Tapia, F.G.: Magnitud de la contaminación de leche comercial disponible en el Valle de México con estreptomicina, penicilina y tetraciclina. Memorias de la Reunión de investigación pecuaria en México. México D.F. (1985)
15. Cruz, A.M., Pérez, D.M. y Velázquez, Q.F.: Frecuencia de la contaminación de la leche disponible en el Valle de México con estreptomicina, tetraciclina y penicilina. Salud Pública de México, 28: 438-442 (1986).
16. Culler, M.D., Bitman, J., Turk, P.A., Schultze, W.D. and Thomson, M.J.: Mastitis II. Evaluation of antimicrobial amines for use as teat dips. J. Dairy Sci., 63: 95-100 (1980).
17. De la Fuente, E.G.: Pérdidas económicas causadas por mastitis en la producción lechera nacional. Memorias del Curso de actualización sobre mastitis bovina. Máquinas de ordeño mecánico y calidad de la leche. México, D.F. 1-7. Fac. de Med.Vet. y Zoot. de la Universidad Nacional Autónoma de México (1983).
18. Dobbins, C.N.: Mastitis losses. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170: 1129-1131 (1977).

19. Dodd, F.H., Westgarth, D.R. and Griffing, T.K.: Strategy of mastitis control. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170:1124-1128 (1977).
20. Eberhart, R.J.: Coliform mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170: 1160-1163 (1977).
21. Eberhart, R.J., La Van, P.L. and Griel, L.C.: Germicidal teat dip in a herd with low prevalence of Streptococcus agalactiae and Staphylococcus aureus mastitis. J. Dairy Sci., 66: 1390-1395 (1983).
22. Evans, C.A. and Mattern, K.L.: The bacterial flora of the antecubital fossa: The efficacy of alcohol disinfection of this site, the palm and the forearm. J. Inv. Dermatol. 75: 140-143 (1980). In Seymour, S.B.: Disinfection, esterilization and preservation. 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.
23. Farnsworth, R.J., Johnson, D.W. and Dewey, L.: Screening test for new teat dips. J. Dairy Sci., 59: 1997-2000 (1976).
24. Farnsworth, R.J.: Role of teat dips in mastitis control. J. Am. Vet. Med. Assoc., 176: 1116-1118 (1980).
25. Garcia, P.A.: Elementos de método estadístico. 7a. ed. Dirección General de Publicaciones de la Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1978.

26. Godinho, K.S. and Bramley, A.J.: The efficacy of teat dips of differing persistence on teat skin in preventing intrammary infection by Streptococcus uberis and Escherichia coli in dry cows. Brit. Vet. J., 136: 574-579 (1980).
27. Goodman, S.L. y Gilman, A.: Bases farmacológicas de la terapéutica. 7a. ed. Médica Panamericana. México, 1986.
28. Gustafson, D.P., Amstutz, H.E. and Bieber, L.: Report of the panel of the colloquium on bovine mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170: 626-630 (1977).
29. Hall, P.A. and Yordy, C.J.: Modified excided teat model for laboratory screening of teat dips. J. Dairy Sci., 64: 1843-1851 (1981).
30. Halsey, D.: If I had one cow and she had one teat I' dip it.: Dairy Herd Managment., 14 (1979). Cited by Hicks, W.G., Kennedy, T.J., Keister, D.M. and Miller, M.L.: Evaluation of a teat dip of chlorhexidine digluconate (0.5 %) with glycerine (6 %). J. Dairy Sci., 64: 2266-2269 (1981).
31. Harrington, C. and Walker, H.: The germicidality action of alcohol. Boston Med. Surg. J. 148: 548-522 (1903). In Block, S.S.: Disinfection, esterilization and preservation. 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.

32. Heider, L.E. and Barr, H.L.: Practical mastitis control in the field. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170: 1236-1238 (1977).
33. Hernández, H.R.: Determinación de penicilina residual en leche bronca consumida en la ciudad y puerto de Veracruz. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Veracruzana, Veracruz, Ver. 1979.
34. Hicks, W.G., Kennedy, T.J., Keister, D.M. and Miller, M.L.: Evaluation of a teat dip of chlorhexidine digluconate (0.5 %) with glycerine (6 %). J. Dairy Sci., 64: 2266-2269 (1981).
35. Jain, N.C.: Common mammary pathogens and factors in infection and mastitis. J. Dairy Sci., 62: 128-134 (1979).
36. Kowalsky, J.J.: Microbial agents and bovine mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170: 1175-1177 (1977).
37. Madariaga, A.O.E. y López, A.J.: Bacterias asociadas con la mastitis bovina en México y su susceptibilidad a agentes quimioterapéuticos. Veterinaria 10: 213-219 (1979). Fac. de Med. Vet. y Zoot. de la Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F..

38. McDonald, T.J. and Anderson, J.S.: Streptococci isolated from bovine intrammary infections. Am. J. Vet. Res., 37: 377-381 (1976).
39. McDonald, J.S.: Streptococcal and Staphylococcal mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170: 1157-1159 (1977).
40. McDonald, J.S.: Symposium bovine mastitis. J. Dairy Sci., 62: 117-132 (1979).
41. McDonald, J.S. and Anderson, A.J.: Experimental intrammary infection of the dairy cow with Escherichia coli during the nonlactating period. Am. J. Vet. Res., 42: 229-231 (1981).
42. Miller, B.F., Abrams, R., Huber, D.A., and Klein, M.: Formation of invisible, non-perceptible films on hands by cationic soaps. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 54: 174-176 (1943). In Block, S.S.: Disinfection, sterilization and preservation. 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.
43. Moak, H.: Control and eradication of infectious mastitis in dairy herds. Cornell Vet., 6: 36 (1916). In Fransworth, R.J. : Role of teat dips in mastitis control. J. Am. Vet. Med. Assoc., 176: 1116-1118 (1980).

44. Murillo, E.S., Velázquez, F.Q., Pérez, M.D., y Mapes, S.: Procedimiento para evaluar la eficacia de sustancias bactericidas y selladores. Memorias de la Reunión de investigación Pecuaría en México. México, D.F. 1983.
45. Natzke, R.P., Everett, R.W., Guthrie, R.S., Keown, J.F., Meek, A.M., Merrill, W.G., Roberts, S.J. and Schmidh, G.H.: Mastitis control program: Effect on milk production. J. Dairy Sci., 55: 1256 (1972).
46. Natzke, R.P.: Role of teat dips and hygiene in mastitis control. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170: 1196-1198 (1977).
47. Natzke, R.P.: Mastitis and milk quality. Memorias del Ier. Curso de actualización sobre mastitis bovina. México, D.F. 1978. 280-283. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1981).
48. Neave, F.K., Dodd, F.H., Kingwill, R.G. and Westgarth, D.R.: Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. J. Dairy Sci., 52: 696:707 (1969).
49. Packer, R.A.: Bovine mastitis produced by *Corynebacteria*. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170: 1164-1165 (1977).
50. Packer, R.A.: Bovine mastitis caused by *Pseudomona aeruginosa*. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170: 166 (1977).

51. Pankey, J.W., Philpot, W.N., and Boddie, R.L.: Efficacy of low concentration iodophor teat dips against Staphylococcus aureus. J. Dairy Sci., 66: 155-160 (1983).
52. Pankey, J.W., Philpot, W.N., Boddie, R.L. and Watts, J.L.: Evaluation of nine teat dips formulations under experimental challenge to Staphylococcus aureus and Streptococcus agalactiae. J. Dairy Sci., 66: 161-167 (1983).
53. Pankey, J.W., Everhart, R.J., Cuming, A.L., Daggett, R.D., Fansworth, R.J. and McDuff, C.K.: Update on postmilking teat antisepsis. J. Dairy Sci., 67: 1336-1353 (1984).
54. Pérez, E.F.: Revisión de la incidencia de inhibidores bacterianos en leches que se consumen en el Distrito Federal, analizadas en el laboratorio de la Dirección General de Control de Alimentos, Bebidas y Medicamentos de la S.S.A. en el año de 1975 y primer semestre de 1976. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1977.

55. Pérez, M.J.: Principales germenés aislados en México como causantes de mastitis. Memorias del 1er. Curso de actualización sobre mastitis bovina. 1978. 88-102. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. Mexico, D.F. (1981).
56. Philpot, W.N.: Recent findings on teat dip research. Ann. Meet. Natl. Mastitis Council. Inc. Washington, D.C. 32-39 (1975).
57. Philpot, W.N., Body, R.L. and Pankey, J.W.: Hygiene in the prevention of udder infections. IV. Evaluation of teat dips with excised cows' teats. J. Dairy Sci., 61: 950-955 (1978).
58. Philpot, W.N. and Pankey, J.W.: Hygiene in the prevention of udder infections. V. Efficacy of teat dips under experimental exposure of mastitis pathogens. J. Dairy Sci., 61: 956-963 (1978).
59. Philpot, W.N., Pankey, J.W., Bodie, R.L. and Gilson, W.D.: Hygiene in the prevention of udder infections. VI. Comparative efficacy of a teat dip under experimental and natural exposure to mastitis pathogens. J. Dairy Sci., 61: 964-969 (1978).
60. Philpot, W.N.: Control of mastitis by hygiene and therapy. J. Dairy Sci., 62: 168-176 (1979).

61. Philpot, W.N.: Prevention and control of mastitis. Proceed. Reg. Mastitis Seminar, Bloomington, Minn. p.p. 1-19 (1975). Cited by Farnsworth, R.J.: Role of teat dips in mastitis control. J. Am. Vet. Med. Assoc., 176: 1116-1118 (1980).
62. Philpot, W.N.: Better udder health. Hoard's dairyman 124: 262. (1969). Cited by Hicks, W.G., Kennedy, T.J., Keister, D.M., and Miller, M.L.: Evaluation of a teat dip of clorhexiden digluconate (0.5 %) with glycerine (6 %). J. Dairy Sci., 64: 2266-2269 (1981).
63. Postle, D.S.: Evaluation of a selective medium for screening bulk samples for Streptococcus agalactiae. Am. J. Vet. Res., 29: 669-678 (1978).
64. Poultriel, B., and Lerondelle, C.: Induced Staphylococcal infections in the bovine mammary gland. Ann. Rech. Vet., 9: 119-128 (1978).
65. Price, F.B.: Reevaluation of ethyl alcohol as a germicide. Arch. Surg. 60: 492-502 (1950). In Block, S.S.: Disinfection, esterilization and preservation. 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.
66. Quezada, P.L.A.: Detección de las toxinas de estafilococos y de su enzima termonucleasa en derivados lácteos. Nueva lactología mexicana, 5: 14-16 (1983).

67. Rivera, F.E., Pérez, F.L.F.: Diferentes pérdidas económicas por mastitis en un establo lechero. Memorias del Congreso mundial de buiatría. p 386. México, D.F. 1978.
68. Roberts, S.J., Meek, A.M. and Natzke, R.S.: Concepts and recent developments in mastitis control. J. Am. Vet. Med. Assoc., 155: 157-166 (1969).
69. Ruegsegger, G.J., Kuehn, P. and Schultz, L.H.: Iodine in field milk samples and effects on mastitis organisms. J. Dairy Sci., 66: 1976-1979 (1983).
70. Sánchez, H.C.R., Velázquez, Q.F., Y Pérez, D.M.: Contaminación con residuos de cloranfenicol y de novobiocina de la leche pasteurizada que se consume en el área metropolitana del Distrito Federal. Memorias del VI Congreso Latinoamericano de Buiatría. XIII Congreso Nacional de Buiatría. 232-235. México, D.F. 1987
71. Schultz, D.W.: Efectiveness of teat dips. J. Dairy Sci., 53: 423-431 (1958).
72. Schultz, W.D. and Smith, J.W.: Efectiveness of postmilking teat dips. J. Dairy Sci., 55: 426 (1972).

73. Seeling, M.G. and Gould, C.W.: Osmosis as an important factor in the action of antiseptics. Surg. Gynecol. Obstet. 12: 262-267 (1911). In Block, S.S.: Disinfection, esterilization and preservation. 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.
74. Sheldrake, R.F. and Hoare, R.J.T.: Effect of a disinfectant udder wash and a postmilking teat dip in the bacterial population of the teat end on the rate of new intrammary infection. J. Dairy Res., 47: 253-258 (1980).
75. Steel, G.D.R. y Torrie, J.: Bioestadística: principios y procedimientos. Traducción de la segunda edición en inglés. Editorial McGraw-Hill, Bogota, 1985.
76. Stewart, G.A. and Philpot, W.N.: Efficacy of a quaternary ammonium teat dip for preventing intrammary infections J. Dairy Sci., 65: 878-880 (1982).
77. Turck, P.A., Bitman, J. and Thomson, M.J.: Mastitis; effect of pH, temperature and emollients on disinfecting action of N-Dimethyldodecanamine. J. Dairy Sci., 65: 1987-1992 (1982).

78. Vargas, G.R.: La mastitis y su importancia en la salud pública. Memorias del Curso de actualización sobre mastitis bovina, máquinas de ordeño mecánico y calidad de la leche. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1983).
79. Velázquez, Q.F., Pérez, D.M. y González, S.R.: Investigación de residuos de antibióticos en leche pasteurizada y envasada que se consume en el área metropolitana. Salud pública de México, 22: 91-99 (1980).
80. Weltzel, U. Handedisinfektionsversuche mit Zephiral. Arch. Hyg. Bacteriol. 114: 1 (1935). In Block, S.S.: Disinfection, esterilization and preservation. 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.
81. Wessen, D.P. and Schultz, L.H.: Effectiveness of postmilking teat dip in preventing new udder infections. J. Dairy Sci., 53: 1391-1403 (1971).
82. White, C.S., Collins, J.L., and Newman, H.E.: The clinical use of alkylidimethylbenzylammonium chloride (Zephiran): A preliminary report. Am J. Surg. 39: 607 (1938). In Block, S.S.: Disinfection, esterilization and preservation. 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.

83. Zarkower, A. and Scheuchzuber, W.J.: Relationships between teat end bacteria and intramammary infections. Cornell Vet., 68: 40-50 (1978).
84. Zinn, R.D., Anderson, G.R. and Skaggs, J.W.: Staphylococci infections in cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc., 138: 382-386 (1961).
85. Zurita, D.J.: Determinación de antibióticos en leches de diferentes categorías sanitarias que se consumen en el Distrito Federal. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1967.

A P E N D I C E

Cuadro 1. ANTISEPTICOS DE PEZONES PARA INMERSION POSORDEAO

PRODUCTO	% DE CONCENTRACION	REFERENCIAS
Yodóforos	0.25-1.0	(1, 24, 46, 51, 52, 56, 57, 58, 74)
Polivinilpirrolidona-yodo	0.35-1.0	(24, 52)
Hipoclorito	0.6-5.0	(24, 45, 52, 56, 57)
Bromuro	0.2	(24)
Yodo en aceite	0.5-1.0	(24, 56)
Clorhexidina	0.5	(24, 34, 46, 52, 56, 57)
Dióxido de cloro	0.04-0.2	(24)
Na-dicloro-s triazenetriona	0.3-1.7	(24, 52, 57, 58)
Hexaclorofeno	1.0	(24)
Cloruro de cetil piridinio	0.1-0.2	(24)
Sulfato de hidroxiquinoleina	0.1	(24)
Yodo en glicerina	0.5	(60)
Cuaternario de amonio	0.18-0.5	(24, 57, 58, 76)
Bronopol	0.2	(59)
Acido dodecil benzeno sulfónico	1.94-2.0	(4, 21, 58)
Yodo ppm	5,000-5,500	(74)

CUADRO 2. CARACTERISTICAS DE LOS CINCO ANTISEPTICOS COMERCIALES DE PEZONES PARA INMERSION POSORDEÑO EVALUADOS EN SU ACCION GERMICIDA SOBRE PEZONES EXCIDIDOS DE VACAS DE RASTRO.

ANTISEPTICO	NOMBRE QUIMICO*	CONCENTRACION*	VEHICULO*	COLORANTE*	CONSISTENCIA OBSERVADA
I) Cuaternario de amonio	N/alkil dimetil benzil amonio dicloro isocianurato	35 ppm	Base coloidal	Escarlata-hansa-R-N 0.03 g	Muy viscosa
II) Cuaternario de amonio	N/alkil dimetil benzil amonio dicloro isocianurato	500 ppm 0.05 g/dl	Base coloidal	Escarlata-hansa-R-N 0.04 g	Viscosa
III) Yodoforo**	Complejo de yodo-etanol de nonil-fenoxipolioxietileno y polietoxipolipropilietoxil	5,000 ppm 0.5 g/dl	Sin especificar nombre	Biológico	Acuosa
IV) Yodoforo**	Complejo yodo-alkil--fenoxipolioxietil en etanol	15,000 ppm 1.5 g/dl	Acuosa	Sin especificar nombre	Muy viscosa
V) Yodo fenolado	Nonil-fenol-poliglicol-eter-yodo-yoduro	51,400 ppm 5.14 g/dl	Solventes dispersantes suavizantes	-	Acuosa

* Anunciado en la etiqueta del producto comercial.

** Sus componentes: III) Polivinil-pirrolidona 1 g
 IV) polivinilpirrolidona 1.5 g
 Metil carbinol 20.0 g

Cuadro 3. Microorganismos usados para probar la eficacia de cinco antisépticos posordenó comerciales aplicados en pezones excididos de vacas de rastro.

LOTES	ANTISEPTICO*	CONCENTRACION	No. VACAS AL AZAR	FEZONES (AL AZAR)	MICROORGANISMOS			
					<u>E. coli</u>	<u>S. aureus</u>	<u>S. agalactiae</u>	<u>S. dysgalactiae</u>
I	Cuaternario de amonio	35 ppm	1-20	20 20 20 20	X	X	X	X
II	Cuaternario de amonio	500 ppm	21-40	20 20 20 20	X	X	X	X
III	Yodoformo	5,000 ppm	41-60	20 20 20 20	X	X	X	X
IV	Yodoformo	15,000 ppm	61-80	20 20 20 20	X	X	X	X
V	Yodo fenolado	51,400 ppm	81-100	20 20 20 20	X	X	X	X
VI	Control	-	101-120	20 20 20 20	X	X	X	X

TOTAL: 120 VACAS 480 FEZONES

* El nombre químico de estos antisépticos aparece en el cuadro número 2.

Cuadro 4. Valores logarítmicos, con base 10 de la cuenta de unidades formadoras de colonias de Escherichia coli (20 observaciones) recuperadas después del tratamiento con antisépticos comerciales aplicados a pezones excididos de vaca.

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V	VI
Media geométrica	2.92	3.07	0.0	3.03	1.31	3.70
Minima	2.40	2.40	0.0	2.50	0.0	0.0
Maxima	3.21	3.54	0.0	3.43	2.11	5.11
Desviación Estandar	0.25	0.32	0.0	0.27	0.49	1.94

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
- II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
- III) Yodóforo con un mínimo de 5,000 ppm.
- IV) Yodóforo con 15,000 ppm.
- V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.
- VI) Control.

Cuadro 5. Valores logarítmicos, con base 10 de la cuenta de unidades formadoras de colonias de Staphylococcus aureus (20 observaciones) recuperadas después del tratamiento con antisépticos posordeño comerciales.

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V	VI
Media geométrica	3.50	3.68	0.04	4.12	2.02	4.54
Mínima	2.90	3.00	0.0	3.41	0.0	3.47
Maxima	4.07	4.25	0.30	4.47	2.84	5.25
Desviación Estandar	0.351	0.396	0.110	0.263	0.771	0.458

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
- II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
- III) Yodóforo con un mínimo de 5,000 ppm.
- IV) Yodóforo con 15,000 ppm.
- V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.
- VI) Control.

Cuadro 5. Valores logarítmicos con base 10, de la cuenta de unidades formadoras de colonias de Streptococcus agalactiae (20 observaciones) recuperadas después del tratamiento con antisépticos posordeño comerciales.

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V	VI
Media geométrica	3.09	2.50	0.31	2.51	1.90	3.87
Mínima	2.0	0.0	0.0	2.0	1.0	3.0
Máxima	3.47	3.13	1.61	2.93	2.44	4.44
Desviación Estandar	0.320	0.665	0.484	0.254	0.350	0.392

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
- II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
- III) Yodoformo con un mínimo de 5,000 ppm.
- IV) Yodoformo con 15,000 ppm.
- V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.
- VI) Control.

Cuadro 7. Valores logarítmicos con base 10, de la cuenta de unidades formadoras de colonias de Streptococcus dysgalactiae (20 observaciones) recuperadas después de la aplicación de 100 millones de UFC/ml a pezones excididos de bovino y tratados con cinco antisépticos comerciales

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V	VI
Media geométrica	2.80	2.49	0.35	2.54	2.09	3.47
Mínima	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0
Máxima	3.39	3.17	1.11	3.69	3.00	3.90
Desviación Estandar	0.409	0.908	0.398	0.946	0.822	0.278

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
- II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
- III) Yodoformo con un mínimo de 5,000 ppm.
- IV) Yodoformo con 15,000 ppm.
- V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.
- VI) Control.

Cuadro 8. Efecto de los antisépticos de pezones posordeño sobre el número de UFC de Escherichia coli.

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V	VI
Media geométrica a)	832	1,175	1	1,072	20	5,623
Porcentaje de reducción de la media geométrica b)	85.1	79.1	99.9	80.9	99.6	-
Logaritmo de la media geométrica c)	2.92	3.07	0.0	3.03	1.31	3.7
Reducción logarítmica d)	0.78	0.63	3.7	0.67	2.39	-

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
 II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
 III) Yodóforo con un mínimo de 5,000 ppm.
 IV) Yodóforo con 15,000 ppm.
 V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.
 VI) Control.

- a) Unidades formadoras de colonias (UFC)/mL del líquido de recuperación
 b) 100 - (porcentaje en regla de tres con relación al control)
 c) Logaritmo de base 10 de la media geométrica de las UFC/mL
 d) Logaritmo de base 10 del control - logaritmo de base 10 de los pezones tratados

Cuadro 9. Efecto de los antisépticos de pezones posordeño sobre el número de UFC de Staphylococcus aureus.

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V	VI
Media geométrica a)	3,162	4,786	1	13,183	105	34,674
Porcentaje de reducción de la media geométrica b)	90.9	86.2	100	62	99.7	-
Logaritmo de la media geométrica c)	3.50	3.68	0.04	4.12	2.02	4.54
Reducción logarítmica d)	1.04	0.86	4.5	0.42	2.52	-

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
 II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
 III) Yodoforo con un mínimo de 5,000 ppm.
 IV) Yodoforo con 15,000 ppm.
 V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.
 VI) Control.

- a) Unidades formadoras de colonias (UFC)/mL del líquido de recuperación
 b) $100 - (\text{Porcentaje en regla de tres con relación al control})$
 c) Logaritmo de base 10 de la media geométrica de las UFC/mL
 d) Logaritmo de base 10 del control - logaritmo de base 10 de los pezones tratados

Cuadro 10. Efecto de los antisépticos posordeño de pezones sobre el número de UFC de Streptococcus agalactiae.

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V	VI
Media geométrica a)	1,230	316	2	324	79	7,413
Porcentaje de reducción de la media b) geométrica	83.5	95.8	99.9	95.7	99.0	-
Logaritmo de la media c) geométrica	3.09	2.58	0.31	2.51	1.90	3.87
Reducción d) logarítmica	0.78	1.37	3.56	1.36	1.97	-

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
- II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
- III) Yodoformo con un mínimo de 5,000 ppm.
- IV) Yodoformo con 15,000 ppm.
- V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.
- VI) Control.

- a) Unidades formadoras de colonia (UFC)/mL del líquido de recuperación
- b) 100 - (porcentaje en regla de tres con relación al control)
- c) Logaritmo de base 10 de la media geométrica de las UFC/mL
- d) Logaritmo de base 10 del control - logaritmo de base 10 de pezones tratados

Cuadro 11. Efecto de los antisépticos posordeño de pezones sobre el número de UFC de Streptococcus dysgalactiae.

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V	VI
Media geométrica a)	631	309	2	347	123	2,951
Porcentaje de reducción de la media geométrica b)	78.7	89.5	100.0	88.3	95.9	-
Logaritmo de la media geométrica c)	2.80	2.49	0.35	2.54	2.09	3.47
Reducción logarítmica d)	0.67	0.98	3.12	0.93	1.38	-

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
 II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
 III) Yodoformo con un mínimo de 5,000 ppm.
 IV) Yodoformo con 15,000 ppm.
 V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.
 VI) Control.

- a) Unidades formadoras de colonia (UFC)/mL del líquido de recuperación
 b) 100 - (porcentaje en regla de tres con relación al control)
 c) Logaritmo de base 10 de la media geométrica de las UFC/mL
 d) Logaritmo de base 10 del control - logaritmo de base 10 de los pezones tratados

Cuadro 12. Media geométrica (de 20 observaciones) de la cuenta de UFC de cuatro microorganismos ubre-patógenos tratados con cinco antisépticos comerciales.

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V	VI
<u>Escherichia coli</u>	832	1,175	1	1,072	20	5,623
<u>S. aureus</u>	3,162	4,786	1	13,183	105	34,674
<u>S. agalactiae</u>	1,230	316	2	324	79	7,413
<u>S. dysgalactiae</u>	631	309	2	347	123	2,951
Promedio	1,202	851	1	1,122	68	8,128

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
- II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
- III) Yodoforo con un mínimo de 5,000 ppm.
- IV) Yodoforo con 15,000 ppm.
- V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.
- VI) Control.

Cuadro 13. Logaritmos de las medias geométricas (de 20 observaciones) de la cuenta de UFC de cuatro microorganismos ubre-patógenos tratados con cinco antisépticos comerciales.

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V	VI
<u>Escherichia coli</u>	2.92	3.07	0.00	3.03	1.31	3.70
<u>S. aureus</u>	3.50	3.68	0.04	4.12	2.02	4.54
<u>S. agalactiae</u>	3.09	2.5	0.31	2.51	1.90	3.87
<u>S. dysgalactiae</u>	2.80	2.49	0.35	2.54	2.09	3.47
Promedio	3.08	2.93	0.17	3.05	1.83	3.90

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
 II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
 III) Yodóforo con un mínimo de 5,000 ppm.
 IV) Yodóforo con 15,000 ppm.
 V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.
 VI) Control.

Cuadro 14. Porcentaje de reducción de las medias geométricas* de unidades formadoras de colonias de cuatro microorganismos sobre patógenos logrado con cinco antisépticos comerciales.

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V
<u>Escherichia coli</u>	85.1	79.1	99.9	80.9	99.6
<u>Staphylococcus aureus</u>	90.9	86.2	100	62.0	99.7
<u>Streptococcus agalactiae</u>	83.5	95.8	99.9	95.7	99.0
<u>Streptococcus dysgalactiae</u>	78.7	89.5	100	88.3	95.9

* 100 - (porcentaje en regla de tres con relación al control).

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
- II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
- III) Yodoformo con un mínimo de 5,000 ppm.
- IV) Yodoformo con 15,000 ppm.
- V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.

Tabla 15. Reducción logarítmica de cuatro microorganismos ubre patógenos logrado con cinco antisépticos comerciales.

Antisépticos porcentaje	I	II	III	IV	V
<u>Escherichia coli</u>	0.78	0.63	3.70	0.67	2.39
<u>Staphylococcus aureus</u>	1.04	0.86	4.50	0.42	2.52
<u>Streptococcus galactiae</u>	0.78	1.37	3.56	1.36	1.97
<u>Streptococcus dysgalactiae</u>	0.67	0.98	3.12	0.93	1.38
Promedio	0.81	0.96	3.72	0.84	2.00

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm.
 II) Cuaternario de amonio 500 ppm.
 III) Yodóforo con un mínimo de 5,000 ppm.
 IV) Yodóforo con 15,000 ppm.
 V) Yodo fenolado con 51,400 ppm.

Cuadro 16. Promedios de unidades formadoras de colonias (UFC) de cuatro microorganismos (E.coli, S. aureus, S. agalactiae y S. dysgalactiae) recuperadas después del tratamiento con cinco anti-sépticos.

Antisépticos posordeño	I	II	III	IV	V	VI
Número de observaciones 20/microorganismo	80	80	80	80	80	80
Media geométrica	1,905.46	2,344.23	1.55	4,466.83	158.49	28,840.31
Media logarítmica	3.28	3.37	0.19	3.65	2.20	4.46

- I) Cuaternario de amonio 35 ppm
 II) Cuaternario de amonio 500 ppm
 III) Yodóforo con un mínimo de 5,0
 IV) Yodóforo con 15,000 ppm.
 V) Yodo fenolado con 51,400 ppm..
 VI) Control.

Cuadro 17. Promedios de unidades formadoras de colonias (UFC) de cuatro microorganismos (E. coli, S. aureus, S. agalactiae y S. dysgalactiae) recuperadas después del tratamiento con antisépticos comerciales.

Microorganismos	<u>Escherichia coli</u>	<u>Staphylococcus aureus</u>	<u>Streptococcus agalactiae</u>	<u>Streptococcus dysgalactiae</u>
Numero de observaciones	120	120	120	120
Media geométrica	8,511.38	13,182.57	2,089.30	1,047.13
Media logarítmica	3.93	4.12	3.32	3.02