



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

EVALUACION DE LA EFECTIVIDAD DEL DF-100
LIQUIDO COMO DESINFECTANTE CONTRA LAS
PRINCIPALES BACTERIAS PRODUCTORAS DE
MASTITIS.

T E S I S
P R E S E N T A D A
P A R A L A O B T E N C I O N D E L T I T U L O D E
M E D I C O V E T E R I N A R I O Z O O T E C N I S T A

P O R :

ROSA MARIA CORTES JIMENEZ

Asesores: MVZ PhD Francisco Suárez Güemes
MVZ MSc Luis Ocampo Camberos

México, D. F.

FALLA DE ORIGEN

1991





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.

RESUMEN

Debido a que la mastitis es la enfermedad más común en el ganado bovino lechero, produciendo enormes pérdidas económicas a la industria lechera, es de suma importancia llevar a cabo actividades para prevenir dicha enfermedad. La aparición de casos de mastitis en un hato lechero se debe entre otras, a sistemas de higiene deficientes y mal manejo durante el proceso de la ordeña, por lo que el aplicar medidas de higiene a todo lo que se relacione con la ordeña ya sea manual o mecánica, ayudará a evitar la aparición de mastitis, en este sentido, resulta conveniente el uso de antisépticos y desinfectantes. En este trabajo se evaluó la eficacia del DF-100 líquido contra las principales bacterias productoras de mastitis: Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus dysgalactiae y Streptococcus uberis, siendo las dos primeras las aisladas con mayor frecuencia en casos de mastitis.

Los microorganismos utilizados se obtuvieron de casos clínicos a través del Departamento de Bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Para la evaluación se prepararon suspensiones bacterianas para

cada uno de los microorganismos en estudio, poniéndose en contacto con el DF-100 líquido a diferentes concentraciones, se utilizó el Método de Miles - Misra para determinar el número de unidades formadoras de colonias (UFC) recuperadas después de la acción del DF-100 sobre los microorganismos.

La evaluación de los resultados se llevó a cabo a través de un Análisis de Varianza de doble entrada y la prueba de Tuckey, para cada uno de los microorganismos estudiados.

El DF-100 demostró tener una actividad antibacteriana básicamente bactericida a una concentración de 10 mg/100 ml con un tiempo de 5 minutos de acción sobre las bacterias utilizadas en el estudio. Al comparar el grupo control del experimento con las diferentes concentraciones y tiempos usados, hubo diferencia estadística significativa, sin embargo, al comparar las diferentes concentraciones y tiempos dentro del grupo experimental las diferencias estadísticas no son significativas.

INTRODUCCION

La producción láctea en México tiene gran importancia económica, ocupando un primer lugar con respecto a los otros productos de origen animal (20).

La leche es una secreción de la glándula mamaria, y es el alimento que nutre al animal mamífero desde su nacimiento hasta que puede consumir su propio alimento.

En condiciones naturales los mamíferos producen únicamente leche suficiente para sus crías, sin embargo, mucho antes de que el hombre hiciera historia, encontró que la leche era buena, buena para él; lo que resultó en la domesticación de animales productores de leche y comenzó a utilizarlos y seleccionarlos para aumentar la producción para su consumo. En gran medida la domesticación incluyó a la vaca, búfalo y la cabra - aunque la oveja y cerdo y otros mamíferos se han utilizado para producir leche en diferentes partes del mundo (15).

El ganado vacuno es el conjunto de animales más importantes domesticados por el hombre y después del perro los más antiguos. En 1976 existían 205 millones de cabezas de ganado lechero en el mundo (8). Es probable que el ganado vacuno fue domesticado por primera vez en Europa y Asia durante la nueva edad de piedra. Esto trajo como consecuencia una más abundante fuente de alimentación, lo que hizo al hombre interesarse en una mayor

producción de leche y carne.

De acuerdo con el Reglamento Oficial Mexicano de la Leche la misma se define: Es el producto natural obtenido por la ordeña completa de uno o más animales con exclusión del producto obtenido 15 días antes del parto y 5 días después del mismo o cuando no contenga calostro (7). La glándula mamaria por su constitución anatomofisiológica es una glándula que con frecuencia es objeto de invasión por diversos microorganismos así como de sufrir traumatismos con facilidad ocasionando mastitis.

La mastitis es un proceso inflamatorio en respuesta al efecto de irritación de la glándula mamaria sin tomar en cuenta la causa que ocasiona el trastorno. El 80% de los casos de mastitis es ocasionado por la invasión de gérmenes patógenos específicos en los senos y tejidos de la ubre; el otro porcentaje de la mastitis es el resultado de lesiones traumáticas al tejido de la ubre y tetas con o sin invasión secundaria de gérmenes (5). Aunque un alto porcentaje de la mastitis son causados por patógenos comunes, existe una larga lista de agentes bacterianos y micóticos que han sido implicados como causantes de mastitis (8). Las principales bacterias y las de mayor distribución en los hatos lecheros son: Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus dysgalactiae y Streptococcus uberis, además Corynebacterium pyogenes, los dos primeros con mayor frecuencia en la mastitis (5, 6, 9, 20). Los microorganismos anteriores son transmitidos por las manos, equipo de ordeño

mecánico y camas (20). Los coliformes E. coli, Enterobacter aerogenes y Mycobacteria pneumoniae son un grupo importante de microorganismos del medio ambiente asociados con mastitis (21). La importancia de la mastitis radica en que ocasiona pérdidas económicas considerables a la industria lechera debido principalmente a la baja en la producción láctea, costos de servicios veterinarios, desecho prematuro de los animales enfermos y una de las consecuencias más graves es que al modificar las propiedades físico-químicas de la leche se impide su consumo o cualquier uso industrial con el propósito de proteger al consumidor, ya que puede afectarse por los microorganismos y toxinas presentes en la leche originadas por bacterias causantes de las infecciones menenreas o por residuos de antibióticos excretados en la leche, provenientes del tratamiento de vacas enfermas (1).

Se considera que en la actualidad la producción de leche a nivel nacional es insuficiente para satisfacer la creciente demanda, dando lugar a la importación del producto que cada vez cuesta más al país. Por lo anterior, se hace necesario realizar estudios acerca de la etiología, control y tratamiento que ayude a solucionar este problema.

La aparición de casos de mastitis en un hato lechero se debe a sistemas de higiene deficientes y mal manejo durante el proceso de la ordeña: desinfección incompleta o mal realizada de las manos, de las toallas para el lavado de la ubra, del equipo de

ordeña mecánica, no usar el antiséptico a la concentración indicada para el lavado de la ubre (6, 20), por lo que al aplicar medidas de higiene a todo lo que se relacione con la ordeña ya sea manual o mecánica ayudará a evitar la aparición de mastitis, siendo así conveniente el uso de antisépticos y desinfectantes.

Siglos antes de que fuera detectada la existencia de microorganismos, ya se usaban sustancias químicas para controlar la supuración de heridas y la difusión de enfermedades contagiosas. Los primeros documentos escritos por el hombre contienen referencias al uso de agentes germicidas (cualquier sustancia que destruye las bacterias aunque no necesariamente las esporas) (3, 10, 11). Los primeros germicidas eran desodorantes, puesto que el concepto de enfermedad se asociaba con el mal olor (11). El uso de los antisépticos deriva de las antiguas técnicas de embalsamiento. El embalsamiento fue desarrollado para conservar el cuerpo a fin de que se mantuviera intacto para la resurrección en el otro mundo (10, 12). Los embalsamadores egipcios encontraron excelentes preservativos en las especias, aceites vegetales y gomas (miel, mirra, bálsamo, etc) (3, 12) como lo demuestran el excelente estado de preservación de las momias egipcias. Las leyes persas enseñaron al pueblo a guardar el agua potable en recipientes de cobre bruñido. La práctica de salar, ahumar y condimentar los alimentos es más antigua que la historia documentada. El uso de vino y vinagre en el cuidado de

las heridas data aproximadamente de Hipócrates, en donde cada cirujano del medioevo tenía su mezcla favorita (10), para curar heridas y evitar infecciones (12).

En 1625 la soda clorada se empleó para las heridas infectadas usándose también para la purificación del agua. También se utilizó el fenol como un desodorante, y más tarde como antiséptico para las heridas infectadas. Suele atribuirse a Lister (1867) la introducción a la cirugía, pero en realidad ya se empleaba mucho antes de conocerse la naturaleza de las infecciones. El uso del alcohol se retrasó muchos años, debido a que Koch en 1881 había comunicado que no mataba las esporas del antrax. Beyer en 1712 demostró las grandes propiedades germicidas del alcohol al 70%. La tintura de yodo se introdujo en la United States Pharmacopeia en 1830, pero su uso no se extendió sino hasta la guerra civil (11). Ignaz Semmelweis, tocólogo-húngaro en un hospital de Viena usó la solución acuosa saturada de cloro en una demostración práctica de la acción benéfica de la antisepsia 1847 - 1849. Louis Pasteur explicó el origen de la fermentación bacteriana y la existencia de agentes infecciosos como causantes de enfermedad (12). En la actualidad los constantes progresos farmacodinámicos han traído como consecuencia un nuevo periodo de auge para la medicación a base de antisépticos y desinfectantes, los cuales ocupan un lugar preponderante en el tratamiento y prevención de gran número de procesos inflamatorios (19).

Muchos profesionales poseen información inapropiada de los agentes antiinfecciosos y los emplean en forma casual o rutinaria, con un criterio en gran parte irracional y con resultados a menudo ineficaces y a veces perjudiciales para el paciente. Los agentes antiinfecciosos tópicos son indispensables en numerosas condiciones en las que son ampliamente utilizados. Todo procedimiento cruento desde una simple inyección hipodérmica hasta una intervención quirúrgica mayor es precedida por la aplicación de un antiséptico (10). Los antisépticos son sustancias que matan a los microorganismos o impiden su crecimiento. El término se usa especialmente para preparaciones aplicadas a tejidos vivos, para reprimir o impedir una infección bacteriana (10, 11, 12). La definición deriva del significado original del término antiséptico como sustancia que se opone a la sepsis, la putrefacción o el deterioro. La concentración del antiséptico es baja con el fin de evitar daños e irritación a los tejidos. El aumento de la concentración y potencia del antiséptico irritaría y quizá destruiría los tejidos a la vez que las células bacterianas y claramente interferiría en el crecimiento normal del tejido de granulación en el proceso de cicatrización de la herida. No existe distinción exacta entre las sustancias antisépticas y las desinfectantes. Un compuesto puede ser antiséptico en baja concentración y desinfectante a una concentración más alta (12).

La palabra desinfectante se empleó por primera vez en el siglo XVII para describir ciertos productos químicos que se utilizaban para combatir misteriosas emanaciones causantes de enfermedad (1). Posteriormente, Patterson citado por Carbonell (4) y Block (3), estudiaron 143 definiciones usadas del año de 1854 al año de 1930 en las cuales no se hacía mención de microorganismos y en las restantes ya se hablaba de la destrucción de gérmenes, y este término se utilizaba para aquellas sustancias que se aplicaban a objetos inanimados como ropa, laboratorios y establos, mientras que las sustancias que se aplicaban sobre el cuerpo eran denominadas desinfectantes de la piel (18).

En la actualidad la Asociación Americana de Salud Pública define oficialmente la palabra desinfectante como la muerte de agentes patógenos por medios físicos o químicos aplicados directamente (3, 18), mientras que la Ley de Sanidad Pública define el término desinfectante como aquel agente que previene la infección mediante la destrucción de microorganismos patógenos. El término desinfección se refiere generalmente a sustancias aplicadas a objetos inanimados. El agente de saneamiento es el desinfectante que reduce el número de contaminantes bacterianos a cierto nivel considerado como seguro por la Ley de Sanidad Pública (2). Los antisépticos tienen requisitos más específicos que los desinfectantes. Entre las características de un antiséptico ideal:

se cuentan buena acción antibacteriana, no ser irritante, baja toxicidad, gran penetrabilidad, actividad en presencia de pus y tejidos necróticos, no interferir en el proceso de cicatrización normal, ser económico y tener color para señalar la zona de aplicación (12). Los desinfectantes en condiciones apropiadas pueden producir esterilización, además, deben de desarrollar una actividad bactericida, germicida, fungicida, protozoocida y viricida.

La capacidad de dispersión también es importante dependiendo en gran parte de la presencia de una tensión superficial reducida. La adsorción importante por los materiales biológicos u otros objetos inanimados pueden interferir con la actividad del agente. Un desinfectante universal no debe ser destructivo para otros materiales, no debe poseer olor desagradable y las propiedades tintoriales deben ser mínimas o inexistentes.

El uso de los desinfectantes se observa desde el lavado de camisolas, ropa de cama, catéteres hasta el instrumental hospitalario y los distintos sectores de un hospital o granja de cualquier tipo (16).

Para el control profiláctico de enfermedades y parásitos externos de los animales importados de los Estados Unidos se requiere desinfección (12).

La limpieza es de gran importancia en el uso efectivo de antisépticos y desinfectantes. La suciedad protege a las

bacterias subyacentes de la acción de un producto químico esterilizante, alterando la eficacia del mismo (14). Un tejido debe frotarse (así como cualquier objeto) hasta que quede bien limpio de suciedad y bacterias adheridas mediante el uso de una sustancia detergente antes de aplicar el antiséptico o desinfectante, se sugiere también el lavado final con alcohol, éter o gasolina blanca para eliminar la grasa de la piel y las bacterias protegidas por ella (12). La eficacia de las sustancias antisépticas o desinfectantes depende de una serie de factores tales como: concentración, duración del contacto, temperatura de la solución antiséptica o desinfectante, susceptibilidad de las bacterias, número de bacterias presentes y naturaleza del medio donde éstas proliferan. La acción antibacteriana de antisépticos y desinfectantes es proporcional a la temperatura dentro de los límites prácticos.

Con frecuencia el medio bacteriano contiene proteínas u otros residuos que neutralizan la acción antibacteriana del antiséptico o del desinfectante.

Hay una serie de información que desgraciadamente la mayoría de las personas que consumen productos de origen animal desconocen. Ejemplificando, existen una serie de enfermedades que los animales transmiten al hombre, a través de ellos o de su producto en forma de proteína. Es difícil evaluar el grado de

contaminación del alimento pues la mayoría de las veces se ve involucrada la manipulación, en donde es obvio que los alimentos están sujetos a una serie de alteraciones de tipo físico, químico y biológico. Se torna difícil tener exactitud de las condiciones higiénico - sanitarias, pues es muy grande y complejo el proceso que va desde la obtención de la materia prima hasta su manipulación, distribución y consumo .*

El DF-100, objeto de este estudio, es un producto natural a base del extracto de semilla de toronja. Cuando está en solución es de un color limón - amarillo (claro), transparente, sin sedimento detectable ya que es rápida y completamente soluble en agua. No corrosivo y no volátil.

El DF-100 de reciente descubrimiento ha comenzado a ser objeto de intensos estudios realizándose pruebas de laboratorio tanto en animales, cultivos bacterianos, virales (en embrión de pollo), fungos e inclusive en humanos, para ser evaluado como un desinfectante.

entre las características del DF-100 líquido se consideran las siguientes:

* Bottino, J.A.: Avaliação da eficiência do DF-100 extrato de semente de Grape-fruit na desinfecção dos equipamentos industriais de usinas de leite e indústrias de laticínios. Universidade de São Paulo Fac. de Med. Vet. e Zoot. Brasil 1979.

a. El ingrediente activo del DF-100 posee muy baja toxicidad. Esto es importante porque por lo general, la mayoría de los desinfectantes que se usan en un medio animal o humano, tienen de mediana a alta toxicidad, por lo que se debe proceder con extremo cuidado al utilizarlos.

El riesgo de cualquier propiedad toxicológica significativa del DF-100 es impresionante dado que concentraciones extremadamente pequeñas del producto se pueden emplear con extraordinarios resultados.

b. En vista de las excelentes características del DF-100 como su amplio espectro de actividad antibacteriana, antiviral, antimicótica y antiprotoczoaria, ayudará indudablemente en su propia aceptabilidad.

c. El hecho de que este producto tenga un aroma muy agradable, también puede facilitar su aceptación.

Trabajos que se han realizado para determinar la acción del DF-100 líquido:

El DF-100 a una concentración de 50 ppm funciona como excelente desinfectante-sanitizante cuando se emplea sin mezclarse con otro producto, para enjuagar los tanques de leche estando en contacto por un mínimo de dos minutos. Con el procedimiento anterior la

población bacteriana se ve disminuida hasta en un 98.9%. Esto tiene importancia por la razón de que la leche puede contaminarse durante las manipulaciones en el proceso o con el equipo contaminado. Asimismo, se ha observado que con el uso de un detergente alcalino previo al enjuague con DF-100 (50 ppm) se anula este efecto .*

El efecto que el DF-100 tiene contra Staphylococcus aureus y E. coli (aisladas de una articulación infectada y de aerosaculitis, respectivamente) a una concentración de 0.125, 0.50 y 1.0 oz/gal es de una marcada actividad antibacteriana. El estafilococos es ligeramente más resistente a 0.125 oz/gal que E. coli. Este trabajo está de acuerdo con el trabajo de Wyatt, 1983.**

El DF-100 probado con organismos patógenos: E. coli, Salmonella sps y Staphylococcus aureus, todos aislados de casos clínicos

* Bottino, J.A.: Avaliação da eficiência do DF-100 extrato de semente de Grape-fruit na desinfecção dos equipamentos industriais de usinas de leite e indústrias de laticínios. Universidade de São Paulo Fac. de Med. Vet. y Zoot. Brasil 1979.

** Reagan, S.: The effect of DF-100 on two pathogenic organisms. Procedure (11-26-84) Central Laboratory Serving the poultry Industry, USA 1984.

de aves (infección sistémica, tracto intestinal y articulación infectada, respectivamente), en donde a diferentes concentraciones 0, 0.125, 0.25, 0.50, 1.0 y 2.0 oz/gal de diluyente (agua destilada) y a diferentes tiempos 5, 10, 15, 30, y 60 minutos. El DF-100 exhibió una marcada actividad antibacteriana en esencia bactericida.*

En los cuadros I y II se muestran los resultados de la prueba de toxicidad del DF-100 en humanos.

CUADRO I:

No. sujetos expuestos	conc. del DF-100 3%	24 hrs exposición	48 hrs exposición	irritación ligera a 24 hrs
Gpo. A 57	0.5 ml.	57		3
Gpo. B 57	1.0 ml.		57	

irritación ligera a 48 hrs	eritema	edema	total afectados	total no afectados
	0	0	3	54
4	0	0	4	53

* Wyatt, R.D.:DF-100 liquid evaluation as a disinfectant. The University of Georgia College of Agriculture. Athens, Georgia 1985.

Después de 24 y 48 horas tiempo de exposición, los parches se removieron y se examinó la zona de contacto para reacciones de la piel. En el grupo A, 24 horas después, tres sujetos mostraron una muy ligera irritación de la piel, en el grupo B, 48 horas post-exposición, cuatro sujetos mostraron una muy ligera irritación de la piel. Las zonas de prueba se re-examinaron después de 24 horas, la reacción se desvaneció. Todas las áreas y piel previamente expuestas fueron normales. El mismo procedimiento de prueba se repitió en el mismo sitio con los mismos sujetos hasta llegar a diez exposiciones con un periodo de tiempo para cada exposición de 24 horas.

CUADRO II:

No. expuestos	concentración	24 hrs de exposición	48 hrs de exposición	irritación ligera a 24 hrs
Gpo. A 57	0.5 ml	57		3
Gpo. B 57	1.0 ml		57	

irritación ligera a 48 hrs	24 hrs eritema	48 hrs eritema	edema 24 hrs	edema 48 hrs	reacción retardada
	7	2	0		0
7		3		0	0

dermatitis	total de afectados	total no-afectados
0	7	50
0	10	47

El significado estadístico de esta prueba no tiene bases válidas para extrapolar los resultados a una población infinita, por lo que se debe tener precaución con cualquier producto. El DF-100 no es un irritante primario ni un material corrosivo.*

Otro estudio desarrollado para determinar la toxicidad por inhalación de DF-100 en ratas en una unidad de aire circulante encerrada en una caja de plástico blanca de 5 1/2 pulgadas por 5 1/2 pulgadas y conteniendo un ventilador, placas dieléctricas y una placa de panal el cual contenía pellets de silicato tratados con el material de prueba el DF-100. La exposición a la inhalación del vapor de DF-100 no produjo mortalidad y ninguna evidencia de toxicidad a la exposición. Todas las observaciones físicas, pesos corporales y hallazgos a la necropsia no fueron extraordinarios para ratas Sprague-Dawley en este tipo de exposiciones.**

* Lynn, C.W.: Schwarz patch test on human subjects. FHW toxicology and biology laboratories. Orlando, Florida 1970.

** Rusch, G.M.; Rinohart, W.: On acute inhalation toxicity study of DF-100 (PQ) in the rat. Bio/Dynamics, Inc. USA 1979.

Para determinar las propiedades antibacterianas del DF-100 en comparación con cloruro de benzalconio y clorhexidina, se utilizaron los siguientes organismos: Pseudomona aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Salmonella dysenteriae, Staphylococcus aureus, Mycobacterium smegmatis, Penicillium funiculosum, Aspergillus niger y Pullularia pullulans. Las muestras de los productos se sometieron a 0 C, 35 C, 40 C, 50 C y 60 C por 21 días. Se procedió a aerear por 60 minutos y centrifugar cada muestra por 30 minutos. Se hicieron diluciones para determinar la actividad antibacteriana en los organismos seleccionados. La dilución se hizo en caldo nutritivo sembrándose 0.1 ml. de cada organismo. Los tubos se incubaron a 37 C por 48 horas. Los tres productos se evaluaron para estabilidad a varias temperaturas, aereación 60 minutos y centrifugación 30 minutos. La actividad de DF-100 no mostró decremento en su actividad antimicrobiana contra los organismos seleccionados. En cuanto a la efectividad en una serie de diluciones del DF-100 y los otros dos productos, el DF-100 demostró ser el más efectivo.*

El DF-100 probado contra tres virus animales: DF-100 fue efectivo contra el virus de la Fiebre Aftosa (FMD), Fiebre Porcina

* Harich, J.: To determine the anti-bacterial properties of DF-100 and comparison with benzalkonium Chloride and Chlorhexidine. Chemie Haus Inc. Casselberry, Florida 1978.

Africana (ASF) y contra la Enfermedad Vesicular Porcina (SVP) a las diluciones: 1:10 en 4 C, 21 C y 37 C en dos minutos en FMDV; 1:10 en 4 C, 21 C y 37 C en SVDV y 1:100 en 4 C, 21 C y 37 C en dos minutos en ASFV. El título del virus control fue 10 unidades por ml.*

El DF-100 demostró un efecto satisfactorio como sanitizador para superficies de contacto no alimenticias con un 99.9% de reducción de todos los organismos usados en el estudio: 1:100 000 contra S. aureus; 1:50 000 contra E. coli; 1:50 000 contra Enterobacter aerogenes; 1:60 000 contra Klebsiella pneumoniae; 1:10 000 contra Pseudomona aeruginosa y sobre el control agua destilada con 0.01% de tritón X 100.**

DF-100 demostró tener igual actividad contra bacterias y hongos cuando se sometió lo mismo que su retador G-11 a diferentes temperaturas y enfrentándose a diferentes organismos (Staphylococcus aureus, Salmonella cholera-suis, Pseudomona aeruginosa, Pullularia pullulans y Aspergillus niger), las temperaturas fueron 0 C, 37 C y 56 C. por dos semanas, después

* Herrick, D.E.: Testing of DF-100 (P-50) against three animal viruses. Department of Agriculture United States Department of Agriculture-Plum Island Animal Disease Center Greenport, N.Y. 1982.

** Porter, F.: Sanitizer test (for inanimate, non-food contact surfaces) on DF-100 a. Wells Laboratories, Inc. Jersey City, N.Y. 1984.

separándose mecánicamente 70 minutos antes de continuar con la prueba. Las diluciones utilizadas fueron: 1:10, 1:100, 1:1 000, 1:5 000, 1:10 000 y 1:100 000.▶

DF-100 probado con tres diluciones: 1:100 000, 1:150 000 y 1:200 000 y administrándose 5 cc a conejos una vez por semana durante cuatro semanas por inserción de catéter dentro de vejiga urinaria, habiéndose notado daños: edema y ligeras reacciones inflamatorias a consecuencia del traumatismo causado por la técnica usada para introducir el catéter, asociándose con el producto en prueba DF-100, en donde las diluciones límites son: 1:150 000 y 1:200 000 sin causar problemas. Deben tomarse precauciones en el uso ya que éste es sólo un estudio en animales.**

El objetivo del presente trabajo fue el evaluar la eficacia del producto DF-100 líquido como desinfectante, probándose su acción contra los siguientes microorganismos: Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Streptococcus dysgalactiae y Streptococcus uberis a las concentraciones: 10 mg/100 ml, 20 mg/100 ml, 40 mg/100 ml, 80 mg/100 ml y 150 mg/100 ml.

Hipotesis

El producto DF-100 líquido es eficaz como desinfectante teniendo

* Marich, J.: To investigate the microbial and fungi effectiveness of DF-100 and G-11 as challenge and stability studies. F.W. Toxicology and Biology Laboratories, Nutra-Basic, Casselberry, Florida 1975.

** Marich, J.: Various concentrations urinary bladder. Chemia Haus, Inc. Casselberry, Florida 1977.

una acción bactericida sobre Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus dysgalactiae y Streptococcus uberis a las concentraciones 10 mg/100 ml, 20 mg/100 ml, 40 mg/100 ml, 80 mg/100 ml y 160 mg/100 ml.

Material y métodos

Los géneros bacterianos que se utilizaron en el estudio fueron recuperados de casos clínicos y proporcionados por el Departamento de Bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus uberis, Streptococcus agalactiae). Las bacterias se sembraron en agar sangre, o incubándose a 37 C por 24 horas, para posterior identificación según técnicas descritas por Carter (5).

Para tener un número mayor a 1×10^6 /ml se sembraron en caldo tioglicolato incubándose por 24 horas a 37 C.

Para la evaluación de la actividad antibacteriana del DF-100 líquido se prepararon una serie de concentraciones basadas sobre 100% de material activo y diluido con agua desmineralizada.

Las concentraciones 10 mg/100 ml, 20 mg/100 ml, 40 mg/100 ml, 80 mg/100 ml y 160 mg/100 ml se enfrentaron a los diferentes microorganismos seleccionados para el estudio, posteriormente se agregó 1 ml de cada concentración de DF-100 a tubos de prueba estériles con tapón. Después se agregó a cada tubo de prueba 1 ml

de suspensión de cultivo bacteriano (de cada una de las bacterias se tenía una suspensión la que estaba en el caldo tioglicolato) tipificado y conteniendo como mínimo 1×10^6 /ml.

A los 5, 15, 30 y 60 minutos después de la adición de la suspensión bacteriana a los tubos de prueba conteniendo el DF-100 (concentraciones en estudio) se procedió a la evaluación de la eficacia del producto. La evaluación se llevó a cabo de la siguiente manera: Manteniéndose los tubos de prueba a baño maría a 37 C.

1.- A los 5 minutos se tomó 0.2 ml del tubo de prueba para diluirlo en 1.8 ml de S.S.F. estéril contenida en otro tubo estéril sin tapón, ésta fue la primera dilución (10^{-1}) décuple de 8, para poder determinar el número de unidades formadoras de colonias que se recuperaron después de la acción del DF-100 sobre las bacterias. Se sembraron 2 cuadrantes de cajas de petri (agar sangre) por cada dilución décuple (10^{-1} hasta 10^{-8}) incubándose a 37 C por 24 horas, y se realizó la lectura de crecimiento bacteriano por inspección visual (13).

El método descrito en el tiempo 5 minutos se realizó para los tiempos 15, 30 y 60 minutos.

Es importante señalar que el procedimiento descrito anteriormente (1.-) se realizó de igual forma en cada una de las concentraciones utilizadas del DF-100 en el estudio.

El control del experimento funcionó de la siguiente manera: en un tubo de prueba estéril con tapón se agregó 1 ml de suspensión

bacteriana (del mismo caldo tioglicolato usado para las diferentes concentraciones del DF-100) y 1 ml de S.S.F. estéril, realizándose el Método Miles-Misra de igual manera que en el lote experimental, lo anterior se corrió a los tiempos 0, 5, 15, 30 y 60 minutos.

Resultados

En los cuadros 1, 2, 3 y 4 se muestran las comparaciones entre la acción del desinfectante DF-100 líquido y el crecimiento bacteriano, asimismo, en las figuras 1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 4A, 4B, se observan gráficamente dichas comparaciones. La variable unidades formadoras de colonias (UFC) se expresan en forma logarítmica con base 10, además, en los mismos cuadros (1, 2, 3, 4) se puede observar que a los 5 minutos en la concentración 80 mg/100 ml el DF-100 no permitió el crecimiento bacteriano en ninguno de los géneros bacterianos utilizados, no importando el número basal de unidades formadoras de colonias; ocurriendo lo mismo con la concentración 160 mg/100 ml.

Se llevó a cabo un Análisis de Varianza de Doble Entrada (Cuadros 1A, 2A, 3A, 4A) y la Prueba de Tuckey (Cuadros 1B, 2B, 3B, 4B) para los resultados obtenidos en cada uno de los microorganismos utilizados en el estudio, siguiendo el siguiente modo:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + T_j + CT_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable dependiente (número de unidades formadoras de colonias).

μ = Media general.

C_i = Efecto de la i -ésima concentración del desinfectante DF-100 ($i=1,5$).

T_j = Efecto del j -ésimo tiempo ($j=1,5$).

CT_{ij} = efecto de la interacción concentración - tiempo.

e_{ijk} = error aleatorio

(17)

Discusión

Efecto del DF-100 líquido sobre las principales bacterias productoras de mastitis.

Al llevar a cabo el análisis estadístico con los resultados obtenidos en el estudio se observa que si utilizamos la mínima concentración del DF-100 (10 mg/100 ml) y con un tiempo mínimo de 5 minutos de contacto DF-100 sobre bacteria se obtienen los mismos resultados de actividad antibacteriana que si manejáramos la concentración más alta (160 mg/100ml) y con un tiempo máximo de contacto DF-100/bacteria de 60 minutos.

La actividad antibacteriana que el DF-100 exhibió sobre los géneros Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus dysgalactiae y Streptococcus uberis coincide con la actividad antibacteriana obtenida por Reagan, 1934 y por Wyatt, 1983 quienes trabajaron diferentes géneros bacterianos utilizando las mismas concentraciones que en el presente trabajo, asimismo, al igual que el trabajo de Reagan, 1934 el Staphylococcus aureus es ligeramente más resistente que los demás géneros bacterianos usados en este trabajo.

En cuanto a reducción en la población bacteriana para Staphylococcus aureus fue 98.19% (10 mg/100 ml - 5 minutos) - 100% (20 mg/100 ml 30 minutos), para Streptococcus agalactiae 79.87% (10 mg/100 ml 5 minutos) - 100% (10 mg/100 ml 30 minutos), para Streptococcus dysgalactiae 95.30% (10 mg/100 ml - 5 minutos)

- 100% (40 mg/100 ml - 15 minutos) y para Streptococcus uberis fue 98.92% (10 mg/ 100 ml - 5 minutos) - 100% (20 mg/100 ml - 15 minutos). Bottino, 1979 realizó estudio en donde a una concentración de 50 ppm de DF-100 obtuvo una reducción en la población bacteriana del 98.9% y Porter, 1984 usando el DF-100 como sanitizador para superficie de contacto no alimenticia obtuvo un 99.9% de actividad.

Cabe señalar que en el estudio realizado, el número de unidades formadoras de colonias para cada uno de los géneros bacterianos con el que se inició la prueba no fue el mismo, por lo que no se pueden comparar los resultados obtenidos entre géneros bacterianos, sin embargo, el DF-100 líquido, demostró su efectividad como desinfectante no importando el número basal de unidades formadoras de colonias (UFC).

Conclusión

El DF-100 líquido a una concentración de 10 mg/100 ml y a un tiempo de 5 minutos tiene una reducción en la población bacteriana estadísticamente significativa comparándola con el control de cada uno de los géneros bacterianos productores de mastitis utilizados en el estudio, mostrando así tener una efectividad antibacteriana como desinfectante.

Bibliografías

- 1.- Ayala, G.G.:Evaluación germicida de cinco antisépticos empleados en los pezones de bovinos. Tesis de maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 1990.
- 2.- Athié, A.A.:Evaluación del tiempo de cicatrización de cinco desinfectantes empleados en la práctica médica por el método de fuerza de rompimiento de herida. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México México, D.F. 1983.
- 3.- Block, S.:Historical review, desinfectation, sterilización and preservation. edited by Laurence, A.C. Block, S. 3-8 Lea & Febiger Philadelphia, 1968.
- 4.- Carbonell, R.C.:Antiséptico y desinfectantes. Memorias del curso de actualización sobre desinfección y desinfectantes y su empleo en Medicina Veterinaria. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 1979.
- 5.- Carter, G.R.:Bacteriología y Micología Veterinarias. El Manual Moderno México, D.F. 1979.
- 6.- De la Fuente, E.G.:Memorias del primer curso de actualización sobre mastitis bovina. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 1970.

- 7.- Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica: Manual de prácticas de bioquímica. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 1977.
- 8.- Esminger, B.T.: Dairy cattle science. 2nd edition. The interstate print. Publ. Inc. Danville, Ille, 1987.
- 9.- Flores, F.R.: Manual de mastitis bovina. Departamento de producción Animal: Ruminantes. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 1988
- 10.- Goodman, L.S.; Gilman, A.: Bases farmacológicas de la terapéutica. 7a. ed. 2a reimpresión. Interamericana México, D.F, 1989.
- 11.- Goth, A.: Farmacología médica principios y conceptos. 11a ed. Doyma, S.A. España, 1984.
- 12.- Meyer, J.L.: Farmacología y Terapéutica Veterinarias. UTEHA, S.A. de C.V. México, D.F. 1982.
- 13.- Miles, A.A.; Misra, S.S.: J.H. y G (lond) 38:732 (1938) referidos por Alton, G.G.; Jones, L.M. y Pietz, D.E.: Las técnicas de laboratorio en la brucelosis. 2a ed. FAO-OMS Ginebra, Suiza. 1976.
- 14.- Myrvik, Q.N.: Bacteriología y Micología Médicas. 2a ed. Interamericana México, D.F. 1991.
- 15.- Pérez, G.J.: Bioquímica y Microbiología de la leche. Linusa México, D.F. 1984.
- 16.- Salter, W.T.: Tratado de la farmacología aplicada. 2o tomo Interamericana, S.A., México, D.F. 1953.

- 17.- Steel, G.D.R.; Torrie, J.:Bioestadística: principios y procedimientos. Traducción de la segunda edición en inglés. McGraw-Hill, Bogotá, 1985.
- 18.- Stewart, C.H.:Antisépticos y desinfectantes, fungicidas, ectoparasitidas. Bases farmacológicas de la terapéutica. citado por Goodman-Gilman 7a ed. Interamericana, México, D.F. 1989.
- 19.- Sumano, H.;Ocampo, L.:Farmacología Veterinaria. McGraw Hill México, D.F. 1989.
- 20.- Vargas, G.R.:La mastitis y su importancia en la Salud Pública. Memorias del curso de actualización sobre mastitis bovina, máquinas de ordeño y calidad de la leche. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México México, D.F. 1983.

A P E N D I C E

Cuadro 1. Comparación entre la acción del desinfectante DF-100 líquido y el crecimiento bacteriano Staphylococcus aureus.

Control = Series A 40 mg/100 ml = Series D
 10 mg/100 ml = Series B 80 mg/100 ml = Series E
 20 mg/100 ml = Series C 160 mg/100 ml = Series F

En las figuras se observan graficadas las series.

Concentración del desinfectante DF-100 líquido

	Control	10 mg/ 100 ml	20 mg/ 100 ml	40 mg/ 100 ml	80 mg/ 100 ml	160 mg/ 100 ml
0'	5.5×10^6	5.5×10^6	5.5×10^6	5.5×10^6	5.5×10^6	5.5×10^6
5'	4.5×10^6	0.1×10^6	2.5×10^3	1.25×10^3	-	-
15'	3.75×10^6	7.5×10^5	7.5×10^2	-	-	-
30'	3.75×10^6	5.5×10^5	-	-	-	-
60'	2.75×10^6	3.0×10^5	-	-	-	-

* Tiempo de acción del desinfectante DF-100 líquido sobre bacterias S. aureus

FIGURA 1A. REPRESENTACION DEL COMPORTAMIENTO DE Staphylococcus aureus COMO RESULTADO DE LA ACCION DEL DESINFECTANTE DF-100 LIQ.

DILUCION (10^4) - UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC).

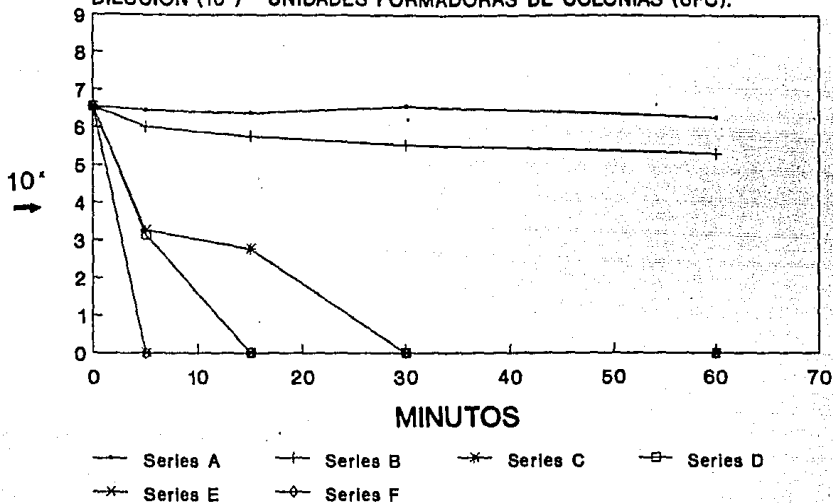
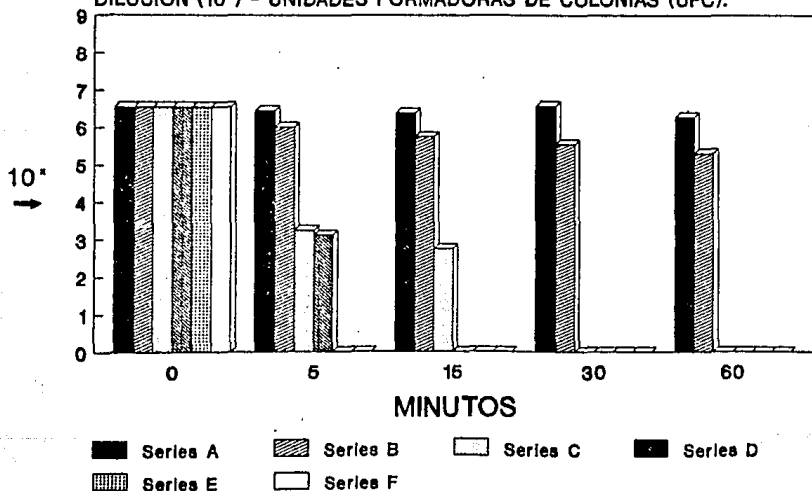


FIGURA 18. REPRESENTACION DEL COMPORTAMIENTO DE Staphylococcus aureus COMO RESULTADO DE LA ACCION DEL DESINFECTANTE DF-100 LIQ.

DILUCION (10⁷) - UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC).



Cuadro 2. Comparación entre la acción del desinfectante

DF-100 líquido y el crecimiento bacteriano Streptococcus agalactiae

Control = Series A

40 mg/100 ml = Series D

10 mg/100 ml = Series B

80 mg/100 ml = Series E

20 mg/100 ml = Series C

160 mg/100 ml = Series F

En las figuras se observan graficadas las series.

Concentración del desinfectante DF-100 líquido

	Control	10 mg/ 100 ml	20 mg/ 100 ml	40 mg/ 100 ml	80 mg/ 100 ml	160 mg/ 100 ml
0'	2.5×10^7	2.5×10^7	2.5×10^7	2.5×10^7	2.5×10^7	2.5×10^7
5'	2.0×10^7	3.25×10^4	5.0×10^2	5.0×10^2	-	-
15'	7.5×10^6	7.5×10^2	-	-	-	-
30'	8.25×10^6	-	-	-	-	-
60'	1.25×10^7	-	-	-	-	-

* Tiempo de acción del desinfectante DF-100 líquido sobre bacterias S. agalactiae

FIGURA 3A. REPRESENTACION DEL COMPORTAMIENTO DE Streptococcus agalactiae, RESULTADO DE LA ACCION DEL DESINFECTANTE DF-100 LIQ.

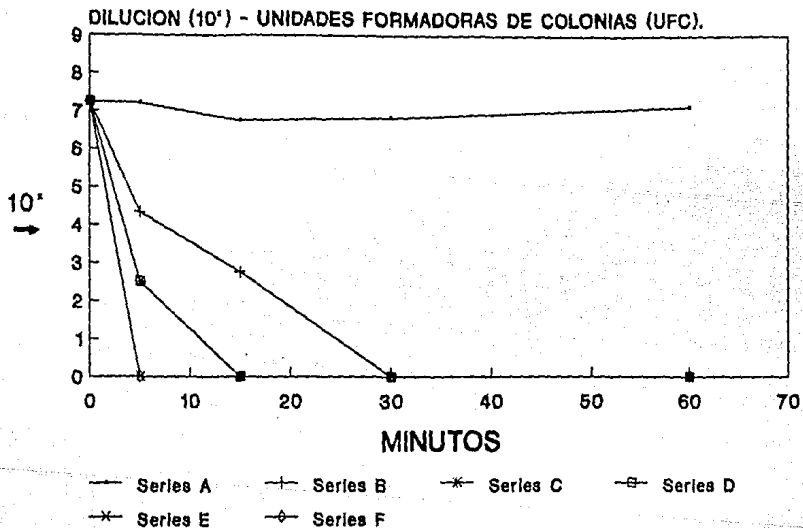


FIGURA 28. REPRESENTACION DEL COMPORTAMIENTO DE Streptococcus agalactiae COMO RESULTADO DE ACCION DEL DESINFECTANTE DF-100 LIQ.

DILUCION (10^4) - UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC).

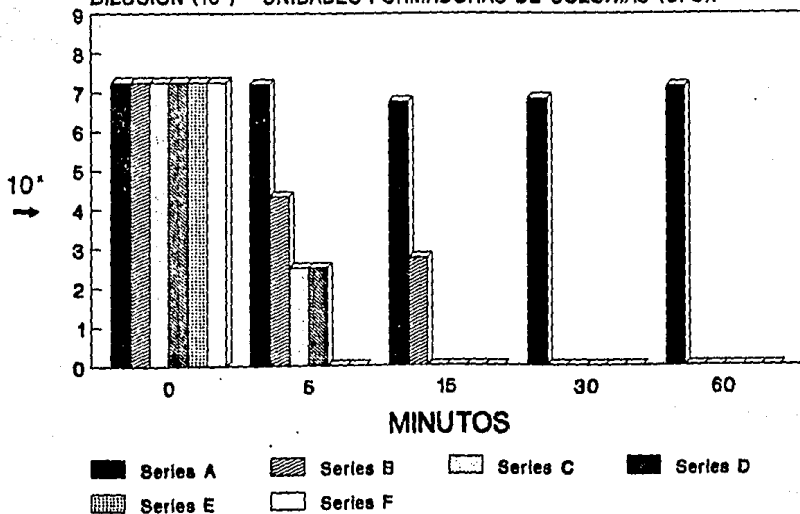
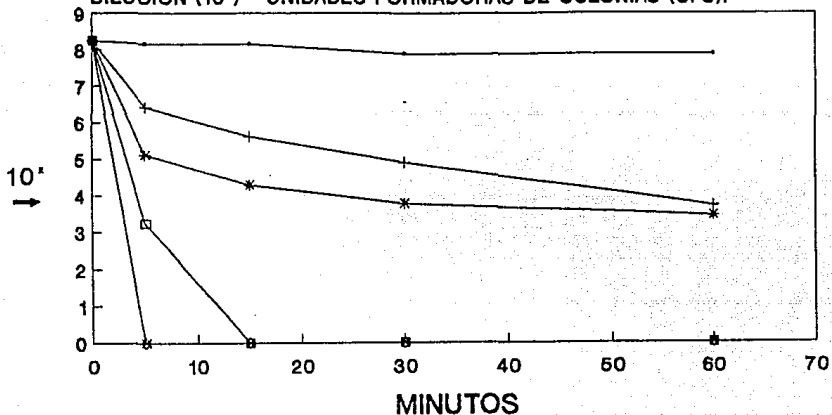


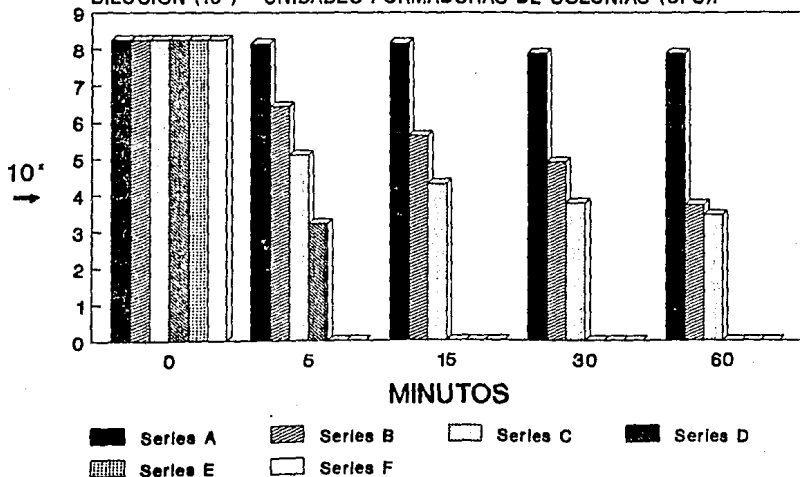
FIGURA 3A. REPRESENTACION DEL COMPORTAMIENTO DE Streptococcus dysgalactiae, RESULTADO DE LA ACCION DEL DESINFECTANTE DF-100 LIQ.

DILUCION (10^4) - UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC).



Series A Series B Series C Series D
 Series E Series F

FIGURA 3B. REPRESENTACION DEL COMPORTAMIENTO DE Streptococcus dysgalactiae, RESULTADO DE LA ACCION DEL DESINFECTANTE DF-100 LIQ. DILUCION (10^7) - UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC).



Cuadro 4. Comparación entre la acción del desinfectante DF-100 líquido y el crecimiento bacteriano *Streptococcus uberis*

Control = Series A 40 mg/100 ml = Series D
 10 mg/100 ml = Series B 80 mg/100 ml = Series E
 20 mg/100 ml = Series C 160 mg/100 ml = Series F

En las figuras se observan graficadas las series.

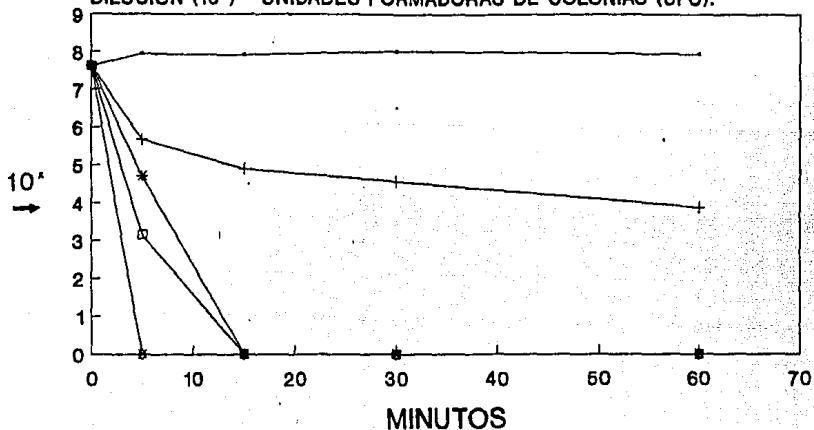
Concentración del desinfectante DF-100 líquido

	Control	10 mg/ 100 ml	20 mg/ 100 ml	40 mg/ 100 ml	80 mg/ 100 ml	160 mg/ 100 ml
0'	6.25×10^7	6.25×10^7	6.25×10^7	6.25×10^7	6.25×10^7	6.25×10^7
5'	9.5×10^7	6.75×10^5	7.0×10^4	1.5×10^3	-	-
15'	9.25×10^7	9.0×10^4	-	-	-	-
30'	0.25×10^8	5.75×10^4	-	-	-	-
60'	9.5×10^7	8.75×10^3	-	-	-	-

* Tiempo de acción del desinfectante DF-100 líquido sobre bacterias *S. uberis*

Figura 4A. REPRESENTACION DEL COMPORTAMIENTO DE Streptococcus uberis COMO RESULTADO DE LA ACCION DEL DESINFECTANTE DF-100 LIQ.

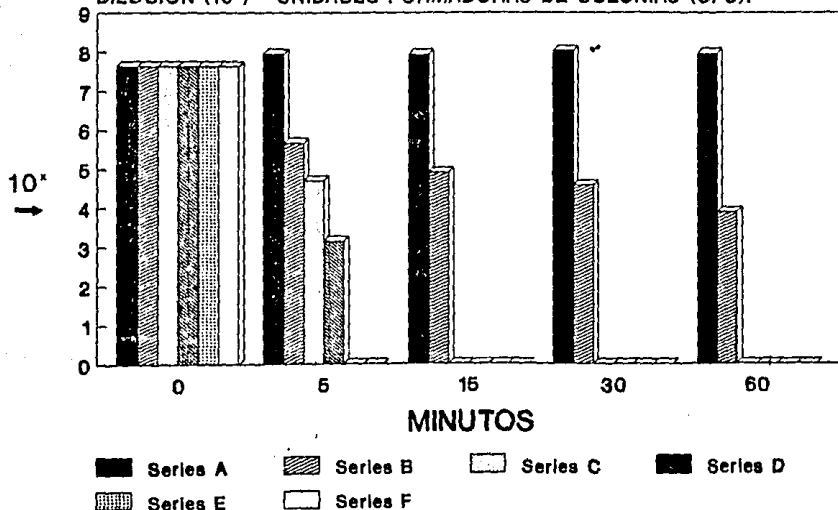
DILUCION (10^4) - UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC).



Series A Series B Series C Series D
 Series E Series F

FIGURA 4B. REPRESENTACION DEL COMPORTAMIENTO DE Streptococcus uberis COMO RESULTADO DE LA ACCION DEL DESINFECTANTE DF-100 LIQ.

DILUCION (10^3) - UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC).



Cuadro 1A: Análisis de varianza de doble entrada para Staphylococcus aureus.

	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	Fc	Ft
Debido al tiempo de contacto DF-100/ bacteria	108.3219	4	27.0804	34.9650	> 2.87
Debido a la concentración del DF-100	45.3383	5	9.0676	11.7076	> 2.71
Debido al error	15.49	20	0.7745	-	

$\alpha=0.05$

Cuadro 1B: Diferencia Mínima Significativa Real (DMSR) para Staphylococcus aureus.

DMSR - Concentración del DF-100		
	$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	DMSR
Control & 10 mg/100 ml =	3.01	> 1.5952
Control & 20 mg/100 ml =	3.35	> 1.5952
Control & 40 mg/100 ml =	3.35	> 1.5952
Control & 80 mg/100 ml =	3.35	> 1.5952
Control & 160 mg/100 ml =	3.35	> 1.5952
DMSR - Tiempo de contacto DF-100/bacteria		
	$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	DMSR
Control & 5 minutos =	4.732	> 1.6648
Control & 15 minutos =	4.749	> 1.6648
Control & 30 minutos =	4.45	> 1.6648
Control & 60 minutos =	4.991	> 1.6648

& = Contra.

Cuadro CA: Análisis de varianza de doble entrada para Streptococcus
agalactiae.

	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F _c	F _t
Debido al tiempo de contacto DF-100/ bacteria	25.3561	4	6.33840	71.3276	> 2.87
Debido a la concentración del DF-100	3.8709	5	0.7741	8.6491	> 2.71
Debido al error	1.79	20	0.0895	-	-

$\alpha = 0.05$

Cuadro 2B: Diferencia Mínima Significativa Real (DMSR) para Streptococcus
agalactiae.

DMSR - Concentración del DF-100			
	\bar{X}_1	$-\bar{X}_2$	DMSR
Control & 10 mg/100 ml =	0.9634	>	0.5422
Control & 20 mg/100 ml =	0.9639	>	0.5422
Control & 40 mg/100 ml =	0.9639	>	0.5422
Control & 80 mg/100 ml =	0.964	>	0.5422
Control & 160 mg/100 ml =	0.964	>	0.5422
DMSR - Tiempo de contacto DF-100/bacteria			
	\bar{X}_1	$-\bar{X}_2$	DMSR
Control & 5 minutos =	2.1662	>	0.5659
Control & 15 minutos =	2.3750	>	0.5659
Control & 30 minutos =	2.3634	>	0.5659
Control & 60 minutos =	2.2917	>	0.5659

& = Contra.

Cuadro 3A: Análisis de varianza de doble entrada para Streptococcus
dysgalactiae.

	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	Fc	Ft
Debido al tiempo de contacto DF-100/ bacteria	25.4619	4	6.3654	101.3598	> 2.97
Debido a la concentración del DF-100	3.7453	5	0.7490	11.9267	> 2.71
Debido al error	1.26	20	0.0628		

$\alpha=0.05$

Cuadro 3B: Diferencia Mínima Significativa Real (DMSR) para Streptococcus
dysgalactiae.

DMSR - Concentración del DF-100		
	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$	DMSR
Control & 10 mg/100 ml =	0.9401	> 0.4542
Control & 20 mg/100 ml =	0.9499	> 0.4542
Control & 40 mg/100 ml =	0.9499	> 0.4542
Control & 80 mg/100 ml =	0.95	> 0.4542
Control & 160 mg/100 ml =	0.95	> 0.4542
DMSR - Tiempo de contacto DF-100/bacteria		
	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$	DMSR
Control & 5 minutos =	2.2429	> 0.4740
Control & 15 minutos =	2.2490	> 0.4740
Control & 30 minutos =	2.3541	> 0.4740
Control & 60 minutos =	2.3542	> 0.4740

Cuadro 4A: Análisis de varianza de doble entrada para Streptococcus
uberis.

	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	Fc	Ft
Debido al tiempo de contacto DF-100/ bacteria	123.2228	4	30.8059	8.3759	> 2.87
Debido a la concentración del DF-100	156.2763	5	31.2552	8.4981	> 2.71
Debido al error	73.56	20	3.6779	-	-

$\alpha = 0.05$

Cuadro 4B: Diferencia Mínima Significativa Real (DMSR) para Streptococcus
uberis.

DMSR - Concentración del DF-100			
	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$		DMSR
Control & 10 mg/100 ml =	6.1334	>	3.4762
Control & 20 mg/100 ml =	6.1486	>	3.4762
Control & 40 mg/100 ml =	6.15	>	3.4762
Control & 80 mg/100 ml =	6.15	>	3.4762
Control & 160 mg/100 ml =	6.15	>	3.4762
DMSR - Tiempo de contacto DF-100/bacteria			
	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$		DMSR
Control & 5 minutos =	4.6542	>	3.6279
Control & 15 minutos =	4.7069	>	3.6279
Control & 30 minutos =	5.8325	>	3.6279
Control & 60 minutos =	4.6665	>	3.6279

& = Contra.