

Nº 10
RES.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

EFICACIA VIRICIDA DE DOS DESINFECTANTES
COMERCIALES CONTRA EL VIRUS DE LA
ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A:
NORMA ELENA ALVAREZ ORTIZ



Ciudad Universitaria

México, D.F., 1992

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.

**EFICACIA VIRICIDA DE DOS DESINFECTANTES COMERCIALES CONTRA EL
VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE.**

**Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista**

por

Norma Elena Alvarez Ortiz

**Asesor: MVZ. Ricardo Moreno Chan.
Co-Asesor: MVZ. Graciela Tapia Pérez.**

México, D.F.

1992

RESUMEN

ALVAREZ ORTIZ, NORMA ELENA. Eficacia viricida de dos desinfectantes comerciales contra el virus de la Enfermedad de Newcastle. (Asesor: MVZ. Ricardo Moreno Chan. Coasesor: MVZ. Graciela Tapia Pérez).

Se exploró si la eficacia viricida de dos desinfectantes comerciales denominados "DES-A" y "DES-B", contra el virus de la Enfermedad de Newcastle (ENC), cepa Querétaro, era satisfactoria a títulos altos de 10^9 a 10^{10} DL 50 % E.P. En 12 experimentos realizados, 6 por cada desinfectante. Se usaron como medios biológicos de detección del virus, embriones de pollo de 10 días de edad inoculados en la cavidad alantoidea con 0.1 ml. de una dilución final de 10^{-1} de las mezclas de desinfectante+virus incubadas previamente durante 5, 10 y 15 minutos a la temperatura ambiente. Se encontró que los 2 desinfectantes mostraron alta eficacia viricida a un tiempo de incubación medio ambiental de 5 minutos o menor, sin detectar alguna diferencia significativa. Consecuentemente el empleo de estos desinfectantes contra el virus de la ENC dependerá sólo de la conveniencia del usuario, dado que la potencia viricida es la misma.

INTRODUCCION

Las enfermedades infectocontagiosas inciden en el desarrollo de los sistemas de producción animal intensiva y semiintensiva, a pesar de que el avance que se ha tenido en medicina preventiva y terapéutica es notable. Es preocupación permanente del médico veterinario zootecnista, el conocimiento y la aplicación de medidas preventivas y de control, en construcciones, instalaciones y equipos que coadyuvan a evitar la introducción y diseminación de enfermedades que afecten la producción y la productividad pecuaria.

Las infecciones de las especies animales que se explotan bajo sistema intensivo, son causa de morbilidad y mortalidad provocadas por enfermedades clínicas, las cuales pueden ser de origen viral, bacteriano, fungal y parasitario y repercuten en disminución de la producción. (20,21,29,31).

Por lo anterior se hace necesario el empleo de una serie de medidas tendientes a proteger la salud del hombre y los animales evitando en primer lugar que entren en contacto con el agente productor de la enfermedad, realizándose programas sanitarios en todas las explotaciones pecuarias y las granjas avícolas, no son la excepción, en donde los desinfectantes ocupan un lugar importante porque hay ocasiones en que son el único medio junto con la vacunación, para prevenir o erradicar enfermedades producidas por

microorganismos de rápida transmisión como bacterias y virus (8,12,13,14,15,26,31).

Los virus son agentes que permanecen infectantes durante un periodo de tiempo determinado porque las condiciones medio ambientales prevaletentes como la temperatura, la humedad y la presencia de materia orgánica favorecen su preservación. (9).

Entre las enfermedades virales que afectan a las aves, se encuentran la Enfermedad de Newcastle, Leucosis Linfoide Aviar, Hepatitis con Cuerpos de Inclusión, Enfermedad de Gumboro, Laringo-traqueítis, Viruela Aviar y Bronquitis Infecciosa por citar algunas. (12,13,14,15,24,26).

De estas enfermedades la producida por el virus de la Enfermedad de Newcastle (ENC) continua siendo importante, a pesar de que en los últimos años, en el Valle de México ha disminuido notablemente su incidencia y prevalencia*; sin embargo, cuando se presenta, produce pérdidas económicas muy significativas por mortandad, descenso en la producción de huevo, retraso en el crecimiento, desecho y predisposición a otras enfermedades, sobre todo a la Enfermedad Crónica Respiratoria Complicada (26).

*Registro del Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

La enfermedad se caracteriza por una propagación rápida, iniciándose con signos respiratorios: jadeos, que pueden ir acompañados de estertores húmedos y sonidos crepitantes; diarrea profusa y en muchos casos se presentan signos neurológicos dependiendo de la cepa que afecte la parvada. (12,13,14,15,24,25,26).

El virus de la ENC pertenece a la familia Paramixoviridae y es el primer miembro del género Paramixovirus (PMV-1) que fue aislado de las aves en 1926. En los últimos años, se ha aislado también de especies aviarias, otros miembros de este género, que se han colocado en 9 grupos distintos, desde PMV-1 hasta el PMV'9. En la clasificación de Matthews de 1979 (22) se consideran también los virus de Parainfluenza 1-5 de mamíferos y el de Parotiditis humana. (22).

Los viriones de la ENC., son pleomorfos, esféricos, de 150 nm o más de diámetro, envoltura lipídica de doble capa con proyecciones en la superficie y nucleocápside helicoidal, con genoma no segmentado y RNA lineal de tira única. (12,13,14,15,24,26).

El virus de la ENC es estable, sobrevive durante 30 minutos a 56°C y conserva su capacidad infectante a 4°C en tejidos o heces durante meses. Se aísla de traquea, pulmón, hígado, cerebro, y se adsorbe y hemaglutina eritrocitos aviarios (12,13,14,15,24,26).

Las cepas muestran patogenicidad variable, pero no existen diferencias antigénicas entre ellas. Se han descrito tres tipos de cepas; cuando el virus mata al embrión de pollo en menos de 48 horas se considera velogénica, si lo hace de 48 a 96 horas mesogénica y si actúa de 96 a 120 horas lentogénica. (12,13,14,15,24,26).

Por las lesiones y signos clínicos se pueden clasificar de la siguiente manera: (12,13,14,15,24,26).

Doyle.- Causada por cepas velogénicas y que produce lesiones en el tracto digestivo.

Beach.- Caracterizada por ciertos estratos de cepas velogénicas que producen lesiones en el tracto respiratorio y en el tracto digestivo.

Beaudette.- Actúa principalmente sobre el tracto respiratorio y en ocasiones sobre el sistema nervioso, producida por cepas mesogénicas.

Hitchner.- Algunas ocasiones produce lesiones en el sistema respiratorio y es producida por estratos lentogénicos.

El diagnóstico se lleva al cabo por la observación de los signos clínicos, el aislamiento del virus mediante su propagación en la membrana de la cavidad alantoidea, así como en los demás tejidos de embriones de pollo de 9 a 11 días de edad, su identificación por la prueba de

inmunofluorescencia, por virus-neutralización y por inhibición de la hemaglutinación (12,13,14,15,24,26).

Como medidas de prevención y control se tiene la inmunización que se realiza en zonas donde la enfermedad es enzootica. En la actualidad se dispone de vacunas de virus inactivado producidas con cepa La Sota (lentogénica) y las de virus vivo de cepas lentogénicas como la B1 y cepa La Sota principalmente. (12,13,14,15,24,25,26).

La inactivación del virus de la ENC por desinfectantes químicos es dependiente del medio en el que esté suspendido el virus y así, grandes cantidades de proteínas retardarán su inactivación. La formalina, la beta-propiolactona y el fenol han sido usados para destruir la infectividad sin dañar severamente la inmunogenicidad del virus. A baja temperatura, las diluciones bajas de formalina, destruyen la infectividad sin afectar marcadamente ni la hemaglutinina viral ni su inmunogenicidad. (12).

En los métodos sanitarios utilizados destacan los de la limpieza y desinfección de locales antes de recibir una parvada. Todos los agentes químicos viricidas en diluciones convenientes y aplicadas correctamente, destruirán al virus de ENC con cierta rapidez. (3,13,14,15,25,32).

Los desinfectantes son agentes que destruyen microorganismos patógenos cuando son aplicados a objetos inanimados, a diferencia de un antiséptico, el cual ejerce

su acción germicida cuando se aplica sobre los tejidos vivos. Los desinfectantes tienen un efecto más rápido y un espectro más amplio, aunque en general, son demasiado tóxicos para aplicarse directamente sobre los tejidos. (6,8,11,16,20,31).

Así en la medicina veterinaria son muy usados como un elemento de bioseguridad. De acuerdo al capítulo V, artículos 64 y 66 del Reglamento de la Ley de Sanidad Fitopecuaria de Los Estados Unidos Mexicanos en Materia de Movilización de Animales y sus Productos, se establece que, "para proteger la ganadería nacional de la diseminación de enfermedades, la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos mantendrá un programa permanente de desinfección de vehículos, instalaciones, equipo y materiales para uso de los animales y que las acciones permanentes de desinfección podrán ser incrementadas, siempre que se ponga en marcha cualquier programa para prevenir o combatir alguna enfermedad o plaga". (30).

En la industria avícola, los desinfectantes se usan en los casos citados, así como al terminar un ciclo de postura o engorda, para recibir una nueva parvada y en las incubadoras. (12,13,14,26).

Los desinfectantes pueden ser físicos (calor húmedo, calor seco, radiaciones) y químicos (6,16,20,31) que por sus

principios activos se pueden agrupar bajo la siguiente clasificación: (31).

- I. Agentes tensioactivos aniónicos y catiónicos.
- II. Alcoholes, aldehídos y formaldehído.
- III. Agentes oxidantes, peróxido de hidrógeno.
- IV. Derivados del alquitrán de madera y hulla.
- V. Metales pesados y sus derivados.
- VI. Compuestos de azufre.
- VII. Ácidos y álcalis.
- VIII. Colorantes azoicos y acridínicos.
- IX. Agentes varios. (31).

Para emplear correctamente cualquier desinfectante, se deben lavar las áreas con agua y jabón (aniónico-detergente normal) retirando la mayor cantidad de materia orgánica que sea posible, como procedimiento básico de un buen programa de desinfección (26,31).

Las características óptimas que debe reunir un desinfectante son:

- Efecto letal rápido.
- Eficacia germicida elevada.
- Amplio espectro bactericida y viricida.
- Poco irritante y no corrosivo.
- Penetrante a cavidades y grietas.
- Activo en presencia de materia orgánica
- Bajo costo.

-Olor agradable.

-Compatible con jabones y otras sustancias de uso común para la limpieza.

Ningún desinfectante reúne todas estas características; sin embargo, el criterio de selección deberá estar de acuerdo al mecanismo de acción del compuesto químico y a la intensidad de su uso. (8,31).

Con frecuencia se realizan pruebas para controlar y mejorar las cualidades mencionadas.

A través del tiempo, se han realizado diversos métodos para evaluar la calidad de los desinfectantes. Koch (1881) fue el primero en comparar la actividad de los desinfectantes empleando porciones de hilo de seda que impregnaba con esporas de Bacillus anthracis, para luego desecarlos y sumergirlos en una solución de desinfectante. Después de secarlos, esperaba un tiempo para luego lavarlos con agua y posteriormente sembrar en un medio de cultivo para observar si ocurría crecimiento bacteriano. (31).

Los alemanes Kroing y Paul (1897) publicaron un trabajo clásico basándose en consideraciones fisico-químicas y describen los métodos para el estudio cuantitativo de la desinfección e indicaron que por la acción de los desinfectantes en las poblaciones bacterianas no todas mueren instantáneamente, sino que mueren en tasa

logarítmica, que además es directamente proporcional a la concentración del desinfectante. (18,31).

Ridel y Walker (1903), en Gran Bretaña, introdujeron por primera vez el método conocido como "determinación del coeficiente del fenol" para determinar una cifra que expresara la eficiencia de un desinfectante comparada con el fenol, probados en condiciones iguales. A partir de 1903 el método Ridel y Walker ha sido modificado en varias ocasiones con el propósito de mejorar la exactitud y adaptarlo a otras condiciones de operación. Este procedimiento lo adoptó la Asociación Oficial de Químicos Agrícolas de Estados Unidos (A.O.A.C.). (18,31).

Noll y Younger (1959) realizaron un trabajo que trata sobre la interacción de virus lipofílicos con sustancias lípidas, en contraste con los virus hidrofílicos que no combinan con los lípidos. Basados en estas observaciones, Klein y Deforest (1963) encontraron que los poderes antivirales de la mayoría de los germicidas están determinados por la composición química de la capa externa del virus; así, clasificaron a los virus en tres categorías diferentes para realizar pruebas de acción viricida. (18,19).

Los agentes virales desnudos que tienen una cubierta externa de naturaleza proteica que se consideraron en el grupo de los virus hidrofílicos, siendo un buen ejemplo los picornavirus. (18,19).

En el segundo grupo están los virus lipofílicos que tienen una envoltura de lípidos o lipoproteínas, no resisten el éter, y son inactivados por la mayoría de los agentes germicidas. Un ejemplo es el herpesvirus. (18,19).

Y una tercera categoría llamada intermedia que incluye a los adenovirus, los cuales son de tamaño mediano, sin envoltura y sin lípidos esenciales en su membrana ; son considerados con una resistencia hacia los germicidas, similar a los enterovirus, sin embargo, su patrón de resistencia es parecido al de los lipofílicos. (18,19).

Las evaluaciones se hicieron con virus representativos de cada grupo y los desinfectantes usados fueron el fenol al 5%, hipoclorito de sodio 920 p.p.m. y alcohol etílico al 70% y 95%. Se combinó con una suspensión viral y desinfectantes, se mezclaron en tubos de ensaye y esperaron 10 minutos; posteriormente se inocularon las mezclas a embriones de pollo y varios cultivos de tejidos humanos y se encontraron efectivos al inactivar a los virus de las tres categorías. (18,19).

Las evaluaciones de desinfectantes siguen estando vigentes. La preocupación por mantener un control de calidad y eficacia germicida elevada a conducido a investigadores como Muelemans y Halen (1982), Fate y col. (1984), Patterson y col. (1987), Geden y col, entre otros, a realizar diversos

tipos de experimentos para comprobar las propiedades de algunos desinfectantes. (7,10,27,28).

En México, con el fin de satisfacer los requisitos marcados por la Ley de Sanidad Fitopecuaria de Los Estados Unidos Mexicanos, antes de lanzarse un desinfectante al mercado, debe de registrarse ante la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (Capítulo I, art. 4., 9 y Capítulo VI, art. 60); quien a su juicio podrá registrarlos o no, si sus características y propiedades no llenan los requisitos indispensables. (Capítulo VI, art. 61 y 64)

Entre algunos de los requisitos que deben de reunir los desinfectantes antes de registrarse, está el de las evaluaciones de constatación del producto. Estas podrán realizarse en los laboratorios que dictamine la S.A.R.H. pudiendo ser los dependientes de la misma como el Centro Nacional de Salud Animal (CENASA) y/o el Centro Nacional de Parasitología (CENAPA)*. En caso de que estos laboratorios o cualesquiera que hubieran sido designados no satisfagan el nivel técnico o no cuenten con las instalaciones para la clase de análisis y exámenes que el producto requiera se podrá autorizar a laboratorios particulares Capítulo VII, artículos: (79, 80, 81, 82, 83, 84, 85); por lo que difícilmente se igualan las condiciones experimentales de

*Comunicación personal: M.V.Z. Alberto M. Arce Galán. Jefe del Depto. de Control de Registro de Empresas y Productos. S.A.R.H.. (Recreo No. 51 Col. Actipan, D.F.).

prueba para todos los productos, además de ser costoso, y a pesar de que la S.A.R.H. puede efectuar las evaluaciones que juzgue pertinente, para verificar que los productos autorizados cumplan con los requisitos mínimos, no se indica la frecuencia con que deben de realizarse éstas. (Capítulo VI, art. 75)

Por lo anterior se considera que los controles de calidad de productos farmacéuticos y biológicos, puede no efectuarse con el debido cuidado precisión y periodicidad, y por lo mismo los productos se comercializan en el mercado, en ocasiones no teniendo la eficacia señalada en el marbete. Por eso se considera necesario, como lo establece el Capítulo VI, art. 75, explorar y confirmar periódicamente, la eficacia que tienen los desinfectantes que se expenden en el mercado.

En este estudio se seleccionaron dos desinfectantes comerciales denominados por razones comprensibles, como desinfectante "A" o "DES-A" , que es una combinación de fenoles sintéticos, detergentes y vehículo y el desinfectante "B" o "DES-B" que es una combinación de formaldehído, 5, metil, 2, isopropil, fenol, alcohol etílico, metildodecilxilénobistrimetil cloruro de amonio, metildodecibenciltrimetil cloruro de amonio, alcohol metílico y vehículo.

DESINFECTANTE "A" Y MECANISMODE ACCION

El desinfectante "A"("DES-A") es un desinfectante y detergente que según el fabricante tiene acción viricida y fungicida, utilizable en todos los procesos sanitarios de los establecimientos pecuarios, que tiene acción desinfectante aun en presencia de materia orgánica, jabones detergentes, aguas de alto contenido mineral y en medios ácidos o alcalinos, que no es cáustico, corrosivo ni volátil y que diluido tiene olor agradable siendo su acción germicida inmediata y residual. Es fácil de aplicación por aspersión, nebulización inmersión y trapeado. En dilución es prácticamente atóxico y se puede usar en frigoríficos, pasteurizadoras, vehiculos de transporte de animales, clínicas, instalaciones de las granjas e incubadoras (2). Se recomiendan 10 ml. en 1 litro de agua.

Cada 100 ml. de "DES-A" * contienen:

Fenoles sintéticos	8.0	g.
Detergentes	3.746	g.
Vehiculo c.b.p.	100.0	ml.

* Etiqueta del producto.

La mezcla de fenoles sintéticos que tiene el "DES-A", es la siguiente:(27)

1	O-fenil-fenol	10.0%
2	O-bencil-clorofenol	8.5%
3	P-terciario-amilfenol	2.0%
	Ingredientes inertes	<u>79.5%</u>
		100.0%

De esta solución original se hacen varias soluciones según el uso que se le quiera dar; para una limpieza y desinfección general, se utiliza al 0.4%; para áreas muy sucias, al 8% y para tapetes sanitarios, al 1.2%. Asimismo, para nebulizaciones se usa una solución al 30%. (29).

A continuación se describe el grupo al que pertenece cada componente:

A. FENOLES

El fenol (U.S.P.) (ácido carbólico, ácido fénico), a la temperatura ambiente es sólido, cristalino, de fórmula C_6H_5OH ; es soluble en agua en proporción de 1:10 y mas soluble en alcohol y éter.

Los cristales se funden con calor, dando un líquido refringente. Las soluciones de fenol se oscurecen por exposición al aire y a la luz.(6,11,20,23,31).

Los fenoles se caracterizan por poseer uno o más grupos hidroxilo fijados sobre los átomos del anillo bencénico. (ver fórmula).(6,11,20,23,31).



Fórmula desarrollada del fenol.(18)

Por su alto poder de partición, penetran fácilmente los tejidos, desnaturalizan y coagulan las proteínas, además de ser agentes reductores en presencia de oxígeno, la molécula se reordena perdiendo dos átomos de hidrógeno para formar agua con el oxígeno. La combinación fenol proteína es muy estable, tiene poder penetrante y ocasiona daño a la permeabilidad celular, produciendo pérdida de moléculas. (11,20,31).

Los desinfectantes fenólicos conservan su actividad germicida aún en aguas duras y en presencia de materia orgánica, pero baja por la adición de alcohol y grasas y se refuerza con cloruro de sodio y elevación de la temperatura. (20,31).

El fenol es bacteriostático en concentraciones de 0.02% al 1%, bactericida para algunos microorganismos en concentraciones de 0.04% y para todos los organismos en concentraciones superiores al 1.6%; es fungicida en concentraciones mayores al 1.3% y mata esporas de Bacillus anthracis al 5% en 48 horas. Tiene actividad contra virus

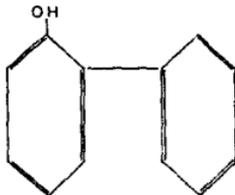
lipofílicos como el de Bronquitis Infecciosa y el de la Enfermedad de Newcastle; también poseen marcada actividad contra micoplasmas. (8,11,20,31).

La concentración al 5% en solución acuosa, se emplea para la desinfección de objetos y locales contaminados. (31).

Cuando se manejan soluciones de fenol deben protegerse los ojos y la piel de su contacto, por su acción necrosante y anestésica, así como los alimentos, por su olor penetrante. (11,20,31).

Los fenoles sintéticos poseen los mismos principios que el fenol, aumentan su acción germicida con la introducción de grupos alquilo como los jabones inversos o los halógenos; en este caso el cloro y la metilación en forma de tres dímeros, orto, meta y para. (6,20,31).

1. El ortofenil fenol ó o-fenil-fenol es un germicida de amplio espectro, es empleado como desinfectante doméstico y hospitalario. (ver fórmula) (11).



Fórmula desarrollada del o-fenil fenol. (23).

2. Amilfenol para terciario ó P-terciario-amilfenol es un bactericida para las bacterias gram positivas y gram negativas y Cándida albicans. Sólo se emplea en combinación con otros germicidas. (11)

3. O-bencil-clorofenol es un bactericida para las bacterias gram positivo y gram negativo y es viricida para los virus lipofílicos. (11)

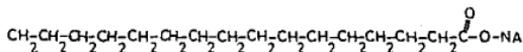
B. DETERGENTES.

Los detergentes son sustancias que tienen la propiedad de limpiar superficies sucias. Esta acción depende de la acción superficial (agentes superficialmente activos o surfactantes), disminuyendo la tensión superficial o interfacial del agua (agentes tensioactivos), por lo que se extienden y mojan fácilmente las superficies (agentes humectantes). (16,20,31).

Estos agentes contienen en su molécula dos grupos: a) hidrofílico o polar, con afinidad o gran solubilidad en agua, generalmente un carboxilo y derivados o un grupo sulfónico; b) grupo lipofílico no polar o hidrofóbico, en afinidad o solubilidad en grasas y aceites, generalmente cadenas orgánicas alquílicas. Para clasificar a los detergentes se toma en cuenta la carga eléctrica del grupo lipofílico. (6,8,11,16,20,31).

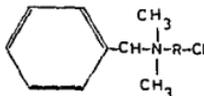
Hay dos clases de detergentes (11,16,20,31):

1. Detergentes aniónicos, cuyo grupo lipofílico lleva carga negativa (anión) y corresponde a los jabones, con un radical R-COONa (una molécula de un ácido graso más una molécula de sodio). (ver fórmula).



Fórmula desarrollada de un jabón aniónico (disulfato de sodio; detergente sintético aniónico) (16).

2. Detergentes catiónicos, cuyo grupo lipofílico lleva carga positiva (catión) y son compuestos cuaternarios de amonio. (ver fórmula).



Fórmula desarrollada de un compuesto cuaternario de amonio (Cloruro de benzalconio). (16).

DESINFECTANTE "B" Y MECANISMO DE ACCION

El desinfectante B ("DES-B") es bactericida, viricida y fungicida, recomendado por el fabricante para cualquier tipo de desinfección en infraestructuras para aves, cerdos, bovinos y pequeñas especies; así como para casetas, zahúrdas, establos, equipos, camiones, cuartos frigoríficos, equipos de ordeña, vados y tapetes sanitarios.

Se recomiendan 10 ml. por 1 litro de agua.

Cada 100 ml de "DES-B" * contienen:

5, metil, 2, isopropil, fenol	2.64g.
alcohol etílico	25.25 ml.
metildodecilxilenobis(trimetil) cloruro de amonio	0.42 g.
metildodecibencil(trimetil) cloruro de amonio	1.69 g.
formaldehído	26.60 g.
alcohol metílico	8.40 ml.
vehículo c.b.p.	100.00 ml.

* Etiqueta del producto

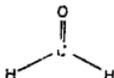
A continuación se describen cada uno de los componentes de "DES-B":

A. 5, METIL, 2, ISOPROPIL, FENOL.

El 5, metil,2, isopropil, fenol; parapolmetacresol o timol, es de naturaleza fenólica, es un derivado de los cresoles; se presenta en cristales incoloros o en polvo blanco poco soluble en agua y más en alcohol, tiene propiedades antisépticas y antiparasitarias y actúa en forma semejante al fenol.(31).

B. FORMALDEHIDO.

El formaldehído es un gas de origen sintético y se emplea generalmente en solución acuosa al 40% p/v denominada corrientemente formol. Tiene la propiedad de polimerizarse fácilmente transformándose en paraformaldehído (formalina), sólido que por calentamiento origina formaldehído. (ver fórmula). (8,11,16,23,31).



Fórmula desarrollada del formaldehído. (6).

El formaldehído es un potente germicida contra toda clase de microorganismos (acción universal), inclusive los esporos; la solución al 0.5% diluida 80 veces (dilución universal), extermina todos los gérmenes microbianos en 6 a

12 horas y a concentraciones mayores actúa más rápidamente, su coeficiente fenólico es de 0.8. Tiene gran poder penetrante y pierde poca actividad en presencia de materia orgánica. (11,16,20,33).

Precipita las proteínas por su combinación con los grupos aminicos libres de las proteínas y debido a ello produce una verdadera desnaturalización de la molécula proteica, que lleva a su coagulación. (8,11,16,20,31).

C.METILDODECILXILENOBISTREIMETIL CLORURO DE AMONIO Y METILDODECIBENCILTRIMETIL CLORURO DE AMONIO.

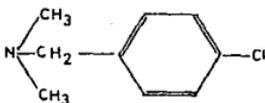
El metildocilxilenobistrimetil cloruro de amonio y el metildodecibenciltrimetil cloruro de amonio son agentes que tienen en su composición química, compuestos cuaternarios de amonio.

Los detergentes o surfactantes catiónicos se caracterizan porque el grupo lipofílico o hidrofóbico lleva carga positiva (catión). Las principales sustancias de esta clase son compuestos de amonio, que están remplazados respectivamente por un cadena alifática larga (grupo lipofílico), un grupo aromático alquil sustituido corto y dos grupos alquilo cortos (metilos). En algunas sustancias no existe el grupo aromático citado, solamente tres grupos metilo unidos al nitrógeno, mientras que en otros, el nitrógeno cuaternario forma parte de un anillo heterocíclico y los compuestos correspondientes son derivados

biscuaternarios. Todos son agentes detergentes y humectantes. (11,20).

Los detergentes tienen la propiedad de adsorberse y concentrarse en la membrana celular (interfase lípidos-agua); son capaces de inhibir los sistemas enzimáticos que rigen la glucólisis y la respiración celular, las mismas reaccionan con proteínas de la membrana celular produciendo su desnaturalización; sin embargo la actividad superficial de la droga no es completamente esencial para estos mecanismos, otras sustancias como los surfactantes no iónicos que disminuyen la tensión superficial no se consideran antisépticos o desinfectantes. (11,20,31).

Los principales detergentes catiónicos son todas las sales de cuaternarios de amonio, cuyo anión es halógeno (ver fórmula). (cloruro o bromuro). (8).



Fórmula desarrollada de un detergente catiónico.

(cloruro de benzalconio) (6)

D. ALCOHOL ETILICO Y ALCOHOL METILICO.

El alcohol etilico tiene afinidad por las partículas lipoideas del germen, destruye la cubierta lipidica de la membrana celular y precipita las proteínas bacterianas. Narcotiza los sistemas enzimáticos esenciales en el interior de las bacterias. El alcohol etilico (CH_2OH), tiene densidad de 0.816 a 15°C . Su punto de ebullición es a 80°C . Fácilmente inflamable, es miscible en éter, agua, cloroformo, glicerina y aceite de ricino. (6,11,20,23,31).

Se utiliza en la limpieza de la grasa en la piel; siempre es mas eficaz en concentración al 70%. (6,11,16,31).

El alcohol metilico es mas tóxico y actúa en la misma manera que el anterior. (8)

En este caso los alcoholes se emplean como solventes de los otros elementos del desinfectante.

HIPOTESIS

Si el principio activo de un desinfectante comercial, no es de buena calidad o se encuentra en el producto en una concentración inferior a la especificada en el marbete, su potencia viricida será inferior a la manifestada por el fabricante.

OBJETIVO

Determinar si los desinfectantes comerciales como el DES-A y el DES-B poseen la potencia viricida satisfactoria contra el virus de la cepa Querétaro de la Enfermedad de Newcastle, utilizando como medio biológico de detección de la supervivencia del virus, al embrión de pollo.

MATERIAL Y METODOS.

Desinfectantes: Los desinfectantes seleccionados para el presente estudio fueron el desinfectante "A" ("DES-A") y el desinfectante "B" ("DES-B"). El "DES-A" es una mezcla de fenoles sintéticos, detergentes y vehículo, que el fabricante recomienda a una dilución de 10 ml/ 1 L de agua y el "DES-B" es una combinación de 5, metil, 2 isopropil, fenol, formaldehído, metildodecibenciltrimetil cloruro de amonio, metildodecixilenobis-trimetil cloruro de amonio, alcohol etílico, alcohol metílico y vehículo, que el fabricante recomienda a una dilución de 10 ml / 1 L de agua para una mayor desinfección.

Cepa del virus de la Enfermedad de Newcastle (ENC): La cepa de virus utilizada consistió en fluido alantoideo de embriones de pollo infectados con la cepa velogénica Querétaro del virus de la Enfermedad de Newcastle (ENC) con títulos consistentes de 10^6 a 10^{10} .*

Embriones de pollo: Los embriones de pollo usados para la detección de la supervivencia del virus, sobre la acción viricida del desinfectante fueron producidos en la granja Experimental Avícola Veracruz de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, de gallinas reproductoras sujetas al manejo ordinario y libres de Salmonella s.p.p. y Micoplasma s.p.p.

*Titulados por el método de Reed y Muench. (4)

DISEÑO EXPERIMENTAL.

Los desinfectantes "A" y "B", se mezclaron con el virus de la Enfermedad de Newcastle (ENC) en la proporción de 1 ml. de la suspensión viral y 9 ml. de los desinfectantes en la dilución recomendada por los fabricantes. De la dilución resultante de 1/10, se inoculó 0.1 ml. en el saco alantoideo de 5 embriones de pollo de 10 días de edad, a los 5, 10 y 15 minutos de incubación de las mezclas desinfectante-virus, para un total de 15 embriones por cada desinfectante y 5 embriones por cada tiempo de incubación. Los embriones se incubaron a 37°C durante 4 días; eliminando durante este periodo a todos aquellos embriones que murieron en menos de 24 horas con hemaglutinación y cultivos bacterianos negativos. Todos estos embriones no se consideraron para los registros estadísticos de vivos y muertos. (1,3,5,17,18,19,32).

Este diseño básico se repitió con 6 muestras de cada desinfectante tomadas al azar, de diferente distribuidor y lote, con fecha de acción vigente y una caducidad posterior a 1993 y que se numeraron para el DES-A del 1 al 6 y para el DES-B del 7 al 12.

Las pruebas se realizaron simultáneamente con 4 controles: a) de inocuidad del desinfectante, b) de patogenicidad del virus, c) de inoculación de un placebo (solución salina fisiológica al 0.85%) y d) de incubación

(para verificar la incubabilidad de los embriones usados y el funcionamiento de la incubadora).

El título del virus utilizado en cada una de las pruebas con los desinfectantes evaluados se controló haciendo una titulación simultánea del mismo.

En cada embrión que murió o sobrevivió después de 24 horas pos-inoculación, se realizaron dos pruebas: una de hemaglutinación en placa para comprobar la presencia del virus y la de siembra en un medio bacteriológico de fluido alantoideo, para detectar la posible contaminación bacteriana.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

RESULTADOS

En el cuadro 1 de Supervivencia y Mortalidad del embrión de pollo, para la comprobación del grado de inactivación del virus de ENC por el "DES-A", se observa que en los experimentos realizados del 1 al 6 con este desinfectante, el virus de la ENC con títulos de 10^9 a 10^{10} , fue completamente inactivado, en los 6 experimentos a tiempos de 5 minutos o menores, siendo la supervivencia de los embriones de pollo inoculados con las mezclas de "DES-A"+virus, del 100% y la mortalidad de 0.

En el cuadro 2 de Supervivencia y Mortalidad del embrión de pollo, para la comprobación del grado de inactivación del virus de la ENC por el "DES-B", al igual que en el cuadro 1, se observa que en los experimentos del 7 al 12 para este desinfectante, el virus de la ENC con título de 10^9 a 10^{10} , fue completamente inactivado, en los 6 experimentos a tiempos de 5 minutos o menores, siendo la supervivencia de los embriones de pollo inoculados con las mezclas de "DES-B"+virus, del 100% y la mortalidad de 0.

Como es fácil observar, los datos en los cuadros 1 y 2, no muestran alguna diferencia en la eficacia viricida de los dos desinfectantes estudiados, por lo que el análisis estadístico proyectado inicialmente de "Comparación de dos proporciones binomiales a un 95% de confianza" (17); no se aplicó por considerarse innecesario.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, muestran que no hubo diferencias entre la acción viricida de los dos desinfectantes "DES-A" y "DES-B" contra el virus de la Enfermedad de Newcastle, ya que los dos resultaron igualmente eficaces a tiempos iguales o menores de 5 minutos. Los tiempos de 5, 10 y 15 minutos son los especificados por la Asociación de quimicos Agrícolas (A.O.A.C.) para las pruebas de índice fenólico de desinfectantes contra bacterias, y actualmente no hay tiempos que especifique la A.O.A.C. para pruebas de desinfectantes contra virus. (1)

Los trabajos presentados por Cunningham (1948) y por Tilley y Anderson (1947) (5,30), muestran la acción germicida de diversos agentes químicos contra el virus de la Enfermedad de Newcastle. En ninguno de los dos trabajos se usaron componentes químicos mezclados, únicamente se probaron compuestos solos. En el primero, se muestra que el fenol a la concentración de 4% tuvo buena eficacia mientras que al 2% no fue eficaz contra el virus de la ENC a tiempos iguales o mayores de 5 minutos, y en el segundo muestra que el fenol a concentraciones de 3% y 4% fue eficaz en tiempos menores o iguales a 5 minutos, lo que concuerda con la presente investigación; sin embargo, como se mencionó, en ninguno de los dos trabajos citados, se usaron mezclas de más elementos como en el caso de los desinfectantes "DES-A"

y "DES-B" estudiados en este trabajo. Así el "DES-A" presenta en su composición química, fenoles sintéticos, detergentes y vehículo que facilitan el mecanismo de la acción del desinfectante, por el sinergismo que existe en sus componentes, además del tropismo que existe de los fenoles y los detergentes hacia los virus lipofílicos como el de la ENC. (5,11,20,31,32).

Así mismo, en los experimentos citados, se muestra la actividad que tuvieron los compuestos de cuaternarios de amonio en el primer trabajo y en el segundo trabajo se muestra la actividad del alcohol etílico a concentraciones de 95%, 70%, 40% y 25%. Estos resultados pueden compararse con los resultados del desinfectante "DES-B" que contiene en su composición química 5, metil, 2, isopropil, fenol; alcohol etílico, metildodecilxilenobistrimetil cloruro de amonio, metildodeciltrimetil cloruro de amonio, alcohol metílico, formaldehído y vehículo. Los resultados de las investigaciones de Cunningham y de Tilley y Anderson muestran una alta eficacia de estos dos componentes. Al igual que el desinfectante anterior, el DES "B" muestra un alto sinergismo de sus componentes, además de la afinidad por los organismos lipofílicos como el virus de la ENC. (5,11,20,31,32).

CONCLUSIONES

1. El desinfectante comercial "DES-A" fue eficaz contra el virus de la Enfermedad de Newcastle cepa Querétaro a títulos elevados, a la concentración recomendada por el fabricante y a tiempos de acción de 5 minutos o menores.

2. El desinfectante comercial "DES-B" fue eficaz contra el virus de la cepa Querétaro del virus de la Enfermedad de Newcastle a títulos elevados, a la concentración recomendada por el fabricante a tiempos de acción de 5 minutos o menores.

3. Los dos desinfectantes pueden recomendarse para la desinfección contra el virus de la Enfermedad de Newcastle, siguiendo las indicaciones de la casa fabricante.

4. Deben continuar realizándose constataciones periódicas de productos desinfectantes, tal como lo marca el artículo 75 del Capítulo VI de la Ley de Sanidad Fitopecuaria de los Estados Unidos Mexicanos.

LITERATURA CITADA

1. A.O.A.C. : Official Methods of Analysis. 10 th ed. Association of Official Agricultural Chemist, Washington, D. C. , 1965.
2. C.P.P. : Frontuario de Especialidades Veterinarias. 11 a ed. Centro Profesional de Publicaciones. México, D. F. , 1989.
3. Cunningham, C. H. : The effect of certain chemical agents on the virus of Newcastle disease of chickens. Am. J. Vet. Res. , 9: 195-197 (1948).
4. Cunningham, C.H.: Virología Práctica. 3a ed. Acribia, Barcelona , España, 1959.
5. Cunningham, C.H. and Stuart : The effect of certain chemical agents on the virus of Infectious Bronchitis of chickens. Am. J. Res. , 7 : 466-469 (1946).
6. Davis, D.B.; Dulbecco, R.; Eisen, H.N.; Ginsberg, H.; Wood and Mc. Carty : Microbiology. 2th ed., Harper & Row Publisher, New York, U.S.A., 1973.

7. Fate, M.A.; Skells J.K.; Whitfill, C.E. and Rusell I.D. : Evaluation of four disinfectants under poultry grow-out conditions using contact agar sampling technique. Poult. Sci. 64 : 629-633 (1985).

8. Fuentes, V.O. : Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Interamericana, México, D.F. 1987.

9. Gay, M.G. : Desinfección. Comisión México - Estados Unidos para la prevención de la Fiebre Aftosa y otras enfermedades exóticas de los animales, C.P.A., México, D.F., 1990.

10. Geden, C. J.; Edwards, T.D.; Arends J.J. and R.C. : Efficacies of mixtures of disinfectants and insecticides. Poult. Sci. 66 : 659-665 (1986).

11. Goodman L.S. y Gilman, A. : Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 7a ed. Panamericana, México, D.F., 1990.

12. Hofstad, M.S.; Calnek, B.W.; Helmbolt, C.F.; Reid, W.M. and Yoder, J.R.H.W. : Diseases of Poultry. 6th ed. Iowa State University Press Ames, Iowa, U.S.A., 1972.

13. Hofstad, M. S.; Calneak, B. W.; Helmbot, C.F.; Reid, W. M. and Yoder, J. R. H. W. : Diseases of Poultry. 8th ed. Iowa State University Press Ames, Iowa, U.S.A., 1984.

14. Hofstad, M. S.; Calneak, B. W.; Helmbot, C.F.; Reid, W. M. and Yoder, J. R. H. W. : Diseases of Poultry. 9th ed. B.W. Calneak et al ed. Iowa State University Press Ames, Iowa, U.S.A., 1991.

15. Howard, J.G. y Timoney J. F. : Hagan y Bruner. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. 4a ed. La Prensa Médica S. A., México, D.F., 1983.

16. Jawetz, E. ; Menik, J. L. y Adelberg E. A. : Manual de Microbiología Médica. 9a ed. El Manual Moderno, México, D.F., 1981.

17. Johnson, R.: Estadística Elemental. 2a ed. Trillas, México, D. F., 1987.

18. Koski, T. A. and Stuart, L. S.: Methods of Testing Virucides in: Desinfection, Sterilization and Preservation. Lea & Febiger, Philadelphia, U.S.A., 1971.

19. Koski, T. A. and Chen, J.H.S.: Methods of Testing Virucides in: Desinfection, Sterilization and Preservation. 3th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, U.S.A., 1983.

20. Litter, M. : Farmacología Experimental y Clínica. 7a ed. El Ateneo, S. A., México, D.F., 1988.

21. Maris, P. : Désinfection des bâtiments: le vide sanitaire en aviculture. Poin Vet. 18 (101): 635-639 (1989).
22. Mathewa, R.E.F. : Classification and Nomenclature of Viruses. 3th ed. Report of the International Comite on Taxonomy of Viruses. Karger Basel P., U.S. A., 1979.
23. Merk Co. : The Merk Index. 11th ed. Susan Budavoir, Rahway, N. J., U. S. A., 1989.
24. Mohanty, S. B. y Dutta, S. K. : Virología Veterinaria. Hispano Americana, México, D.F., 1983.
25. Moreno, Ch. R. : Memorias del Curso Teórico-Práctico de Enfermedades Respiratorias de las Aves. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1991.
26. Mosqueda, T. A. y Martinez, B. L.: Enfermedades Comunes de las Aves Domésticas. Universidad Nacional Autónoma de México (U.N.A.M.). Sistema de Universidad Abierta, México, D. F., 1985.
27. Muelemans, G. and Halen, P. : Efficacy of somme disinfectans against infectious bursal disease virus and avian reovirus. Vet. Res.3 :412-413 (1982).

28. Patterson, P.H.; Ricke, S.C.; Sunde, M.L. and Schaefer D.M.: A comparison of chlorine dioxide (ClO₂) and formaldehyde fumigation (F.F.) for sanitizing hatching eggs: bactericidal potency with pure strains of aerobic bacteria. Poul. Sci.:66 : 156 (1987).

29. Reid, W, M. : Sanitation and disinfection as control methods for coccidiosis, viral and bacterial diseases of poultry. Poul. Sci.:66: 164 (1987).

30. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (S.A.R.H.): Reglamento de la Ley de Sanidad Fitopecuaria de los Estados Unidos Mexicanos en Materia del Control de Productos Biológicos, Químicos, Farmacéuticos y Alimenticios para Uso en Animales; y en Materia de Movilización de Animales y sus Productos. Diario Oficial. México, D.F., 11 julio 1979.

31. Sumano, L. H. y Ocampo, C. L.: Farmacología Veterinaria. Mc. Graw Hill, México, D. F., 1988.

32. Tilley, W and Anderson W. A.: Germicidal action of certain chemicals on the virus of Newcastle disease. Vet. Med. 42: 229-230 (1947).

33. Wills, F. K.: Fumigants and sanitation: date on formaldehyde. poul. dig. 42: 452- 454 (1983).

CUADRO 1

SUPERVIVENCIA Y MORTALIDAD DEL EMBRION DE POLLO DE 9-10 DIAS DE EDAD INOCULADO EN LA CAVIDAD ALANTOIDEA CON LA MEZCLA DEL DESINFECTANTE ("DES A") * CON EL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE. CEPA QUERETARO CON TITULO $10^9, 10^{10}$ $DL_{50} \pm$ E.P./ml.

NO. EXP (REP)	MATERIAL INOCULADO	DIL. VIRUS.	EXPOSICION			EMBRION DE POLLO		TIEMPO MORTALIDAD HR.
			TIEMPO/MINUTOS			SUPERVI- VENCIA %	MORTALIDAD %	
			5	10	15			
1	DES A+V ¹	10^{-1} ^c	^{a b} 0/4	0/5	0/4	100	0	--
2	DES A+V ¹	10^{-1} ^c	0/5	0/5	0/4	100	0	--
3	DES A+V ¹	10^{-1} ^c	0/5	0/5	0/5	100	0	--
4	DES A+V ¹	10^{-1} ^c	0/5	0/4	0/5	100	0	--
5	DES A+V ¹	10^{-1} ^c	0/4	0/5	0/5	100	0	--
6	DES A+V ¹	10^{-1} ^c	0/5	0/5	0/5	100	0	--
CONTROLES	DES "A"		0/4	0/5	0/5	100	0	--
	CONTROL DE VIRUS		5/5			0	100	48
	CONTROL DE INCUBACION		0/5			100	0	--
	CONTROL DE PLACEBO		0/5			100	0	--

* Fenoles sintéticos, jabones y vehículo.

1. Virus de la Enfermedad de Newcastle cepa Querétaro título $10^9, 10^{10}$, $DL_{50} \pm$ E.P./ml.

a) Número de embriones muertos.

b) Número de embriones de pollo usados al tiempo especificado.

c) Cantidad de virus en un ml. de prueba: $10^9, 10^{10}$.

CUADRO 2

SUPERVIVENCIA Y MORTALIDAD DEL EMBRION DE POLLO DE 9-10 DIAS DE EDAD INOCULADO EN LA CAVIDAD ALANTOIDEA CON LA MEZCLA DEL DESINFECTANTE ("DES B") * CON EL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE, CCPA QUERETARO CON TITULO $10^9, 10^{10}$ DL₅₀ z E.P./ml.

NO. EXP (REP)	MATERIAL INOCULADO	DIL. VIRUS.	EXPOSICION TIEMPO/WINUTOS			EMBRION DE POLLO		TIEMPO MORTALIDAD HR.
			5	10	15	SUPERVI- VENCIA %	MORTALIDAD %	
7	DES B+V ¹	10^{-1} ^c	^{a b} 0/4	0/5	0/4	100	0	--
8	DES B+V ¹	10^{-1} ^c	0/5	0/5	0/4	100	0	--
9	DES B+V ¹	10^{-1} ^c	0/5	0/5	0/5	100	0	--
10	DES B+V ¹	10^{-1} ^c	0/5	0/4	0/5	100	0	--
11	DES B+V ¹	10^{-1} ^c	0/4	0/5	0/5	100	0	--
12	DES B+V ¹	10^{-1} ^c	0/5	0/5	0/5	100	0	--
CONTROLES	DES "B"		0/4	0/5	0/5	100	0	--
	CONTROL DE VIRUS		5/5			0	100	48
	CONTROL DE INCUBACION		0/5			100	0	--
	CONTROL DE PLACEBO		0/5			100	0	--

* Formaldehído, 5, Metil, 2, isopropil, fenol; metildodecilxilenobistimetil cloruro de amonio; metildodecibenciltrimetil cloruro de amonio; alcohol etílico; alcohol metílico y vehículo.

1. Virus de la Enfermedad de Newcastle cepa Querétaro título $10^9, 10^{10}$, DL₅₀ z E.P./ml.

a) Número de embriones muertos.

b) Número de embriones de pollo usados al tiempo especificado.

c) Cantidad de virus en un ml. de prueba: $10^9, 10^{10}$.