



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

“EVALUACION DE ALGUNAS SOLUCIONES
DESINFECTANTES Y ANTISEPTICAS SOBRE
Corynebacterium pseudotuberculosis EN PRESENCIA
DE EXUDADO PURULENTO”.

288556

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

SERGIO HUMBERTO DEL RIO GONZALEZ

DIRECTORA DE TESIS: M.V.Z. SUSANA E. GARCIA VAZQUEZ

COASESORES: M.V.Z. SILVIANO TREJO NUÑEZ

M.V.Z. LUZ MA. ORTEGA LEYVA

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO. 2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA 14
MEXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES



DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Evaluación de algunas soluciones desinfectantes y antisépticas sobre Corynebacterium pseudotuberculosis en presencia de exudado purulento".

que presenta el pasante: Sergio Humberto Del Río González
con número de cuenta: 8205266-1 para obtener el título de :
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 9 de Noviembre de 2000

- PRESIDENTE M.V.Z. Susana Elvira García Vázquez
- VOCAL M.V.Z. Carlos Ignacio Soto Zárate
- SECRETARIO M.V.Z. Raúl Radillo Rodríguez
- PRIMER SUPLENTE M.V.Z. Victor Hugo Leyva Grado
- SEGUNDO SUPLENTE M.V.Z. Germán Garrido Farriña

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo, lo dedico de una manera muy especial a mis padres: el Sr. J. Jesús Del Rio Valdez y la Sra. Rosaura González Eufrazio, a quienes les doy las más sinceras gracias por haberme dado la vida; por educarme de acuerdo a sus principios y convicciones; por su infinito amor y comprensión; por darme lo mejor de su tiempo y de sus vidas, y por el apoyo incondicional que siempre me han brindado. Estoy seguro, de que sin ellos nunca hubiera podido llegar a ser realidad el sueño que un día tuve: ser M.V.Z.. Por lo anterior y mucho más, nuevamente muchas gracias. Los quiero mucho y que Dios los bendiga y los proteja.

A mi Directora de Tesis y Coasesores: M.V.Z. Susana E. García Vázquez; M.V.Z. Silvano Trejo Núñez y M.V.Z. Luz M^a Ortega Leyva. Por el tiempo que me dedicaron y por el apoyo incondicional que me brindaron durante la realización del presente trabajo; por su gran paciencia y comprensión; por sus observaciones y consejos; por ser mis guías en este sinuoso camino que conduce a la meta, donde todos los que emprenden esta carrera, esperan algún día llegar: ser M.V.Z.. Por esto y mucho más les estoy y estaré muy agradecido. Siempre los recordaré con cariño y nuevamente muchas gracias por todo.

Al Sr. Iñigo García de Tehuacán, Puebla. Un especial agradecimiento por las facilidades brindadas para el desarrollo del presente trabajo. Muchas gracias.

A M.V.Z. Marco Antonio Mendoza Saavedra. Por el tiempo que te quité; por la paciencia que me tuviste y por el apoyo incondicional que me brindaste, te doy las más sinceras gracias. Estoy en deuda contigo.

Al personal del Laboratorio de Microbiología (L-514) de la I.E.S.C. C-4. Gracias por las facilidades brindadas durante el desarrollo del presente trabajo.

A los I.A. M^a de Lourdes Ramírez Rodríguez y Jaime Islas Díaz. Por su valiosa ayuda e incondicional apoyo; por el tiempo que les quité, y por sus observaciones y consejos en beneficio del presente trabajo les doy las más sinceras gracias, pero sobre todo, gracias por su amistad.

Un reconocimiento especial al M.V.Z. Eric Villegas Alcaraz, por su valiosa cooperación durante el desarrollo del presente trabajo. Gracias.

A los miembros del jurado: Presidenta, M.V.Z. Susana E. García Vázquez; Vocal, M.V.Z. Carlos I. Soto Zárate; Secretario, M.V.Z. Raúl Radillo Rodríguez; Primer Suplente, M.V.Z. Víctor H. Leyva Grado y Segundo Suplente, M.V.Z. Germán Garrido Farrina. Por sus observaciones y consejos para el mejoramiento del presente trabajo, tanto de fondo como de forma; por su comprensión y cordialidad con que fui recibido, les doy las más sinceras gracias.

Mi más profundo agradecimiento:

A la U.N.A.M., por abrirme las puertas hacia el conocimiento.

A la F.E.S.C. C-4, por acogerme en su seno; porque en ella me he formado como M.V.Z. y porque guardo especiales recuerdos de mi paso por sus aulas y demás instalaciones. En ella fue una parte de mi vida.

Un especial reconocimiento, a los profesores que sin egoísmos compartieron conmigo su experiencia y conocimientos. Guardo gratos recuerdos de los M.V.Z.: Carlos Ignacio Soto; Arturo Carmona; Eugenio Bravo y Jorge López.

Mi más sincero reconocimiento para mis compañeros de generación y especialmente para aquéllos, que con sus palabras de aliento me motivaron a seguir adelante. Guardo especiales recuerdos de esos locos del 1152.

A todos los que de una u otra forma participaron en la realización de esta obra, les doy las más sinceras gracias y que tengan éxito en todo lo que emprendan, tanto en el ámbito profesional como en lo personal.

I N D I C E

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION	2 -8
OBJETIVOS	9
MATERIAL Y METODO	10 -12
RESULTADOS	13 - 27
DISCUSION	28 - 29
CONCLUSIONES	30
BIBLIOGRAFIA	31 - 36

RESUMEN

La Linfadenitis Caseosa (LC), también llamada Pseudotuberculosis, por la similitud que presentan las lesiones con aquellas inducidas por micobacterias, es una enfermedad bacteriana que afecta principalmente a ovinos y caprinos de todo el mundo, y ocasionalmente causa problemas en otras especies. El agente causal de la enfermedad es *Corynebacterium pseudotuberculosis*, el cual ingresa al hospedero a través de heridas, siendo el exudado purulento la fuente más importante de contaminación del medio.

Este trabajo se llevó a cabo con el propósito de evaluar la efectividad de algunas soluciones desinfectantes y antisépticas aplicadas a las concentraciones más usadas en las explotaciones ganaderas, sobre *Corynebacterium pseudotuberculosis* en presencia de exudado purulento.

C. pseudotuberculosis, es una bacteria que resiste muy bien las condiciones del medio ambiente, pudiendo llegar a sobrevivir hasta por 6 meses fuera del hospedero, incluso es frecuente encontrar en la literatura que este microorganismo es capaz de sobrevivir hasta por 24 horas en las soluciones antisépticas y desinfectantes que se utilizan para la curación de heridas, desinfección de material, equipo y de instalaciones en general, sin una reducción significativa de su número (Augustine y Renshaw 1986).

Las soluciones desinfectantes y antisépticas utilizadas durante el desarrollo de este trabajo fueron: 1) Formol al 2%; 2) Fenol al 2% y al 5%; 3) NaOH al 2%; 4) Ambietrol 8% (Presentación Comercial); 5) Cloro al 6%; 6) Yodo al 2% y 7) Benzal 1:100.

Se utilizó el método de Microensayo para determinar la sensibilidad de las cepas de *C. pseudotuberculosis* a las soluciones desinfectantes, obteniendo en general mejores resultados al aplicarlas sobre las superficies de metal (acero) que sobre las superficies de madera. Considerándolos de mayor a menor efectividad e indistintamente de la superficie utilizada; el Formol al 2% fué el más eficaz, siguiéndole el Fenol al 5%, el Cloro al 6% y NaOH al 2%, posteriormente el Ambietrol 8% y por último el Fenol al 2%.

Las soluciones antisépticas fueron evaluadas directamente sobre el exudado purulento, siendo el Yodo al 2%, más efectivo que el Benzal 1:100.

Al término de este trabajo, se concluye que las soluciones desinfectantes y/o antisépticas más eficaces contra *C. pseudotuberculosis* en presencia de exudado purulento, y que por consiguiente se recomiendan para su uso son: Formol al 2%, Fenol al 5% y Yodo al 2%.

INTRODUCCION

La Linfadenitis Caseosa (LC), también llamada "Pseudotuberculosis" es una enfermedad crónica y enzoótica de los ovinos y caprinos principalmente, caracterizada por producir abscesos purulentos y caseosos a nivel de piel, nodos linfáticos y órganos internos en un proceso generalizado produciendo debilidad y emaciación progresivas. La lesión típica de *C. pseudotuberculosis* es un granuloma con un centro supurativo, parecido a la lesión inducida por micobacterias, lo cual explica la denominación de "Pseudotuberculosis" (Ashfaq y Campbell, 1980; Gilmour, 1990; Meldrum, 1990; Alonso y col., 1992; Pepin y col., 1999).

Este padecimiento es producido por *Corynebacterium pseudotuberculosis* o denominado también *Corynebacterium ovis*, bacteria gram (+) en forma de bastón corto que adopta la disposición típica de "empalizada o letras chinas". El microorganismo crece bien en agar sangre o medios de cultivo que contengan suero después de una incubación de 24 a 48 horas, forma colonias de aspecto seco, opacas, beta hemolíticas, es inmóvil, intracelular, anaerobio facultativo y todas las cepas producen ácido sin gas de la glucosa y maltosa pero no fermentan la arabinosa, xilosa, rafinosa, lactosa y dulcitol. Presenta dos factores de virulencia; una exotoxina termolábil denominada Fosfolipasa D y un lípido de superficie leucotóxico letal experimentalmente para ovinos, caprinos y animales de laboratorio. Los lípidos de superficie de la pared celular le permiten al microorganismo resistir a la digestión por enzimas celulares y persistir como un parásito intracelular facultativo dentro de los fagocitos. Los lípidos son también citotóxicos e inducen caseificación dando al microorganismo un potencial altamente patógeno. La fosfolipasa D es la causa de una intensa reacción inflamatoria y su producción en la fase temprana de la infección, tiene profundos efectos en la supervivencia y multiplicación del microorganismo en el hospedero, ésta puede ser debida a los efectos en las células fagocíticas, tales como; inhibición de la quimiotaxia, degranulación y letalidad en neutrófilos. En suma la exotoxina actúa como una hemolisina parcial teniendo una acción necrosante limitada dentro de las lesiones caseosas y contribuyendo a la degradación del Receptor de Células-B (RBC) de la membrana (McFaddin, 1976; Cowan y Steel, 1979; Jensen y Swifts, 1988; Sutherland y col., 1989; Favier y col., 1990; Meldrum, 1990; Galina, 1992; Aldridge, 1995; Simmons y col., 1998).

Además de producir LC en ovinos y caprinos, la bacteria puede ocasionar artritis especialmente en corderos, en animales adultos artritis y mastitis, la bacteria infecta también a equinos siendo el agente causal de linfangitis ulcerativa, otras especies susceptibles serían los camélidos y venados en los que ocasiona un cuadro similar a LC. La infección en el hombre también ha sido registrada en veterinarios y trabajadores del campo expuestos a animales infectados,

particularmente en aquellos lugares donde los animales son desollados a mano o su transmisión también puede deberse al consumo de leche cruda de caprinos y ovinos infectados, manifestándose usualmente como una linfadenitis (Guillespie y Timoney, 1983; Zhao y col., 1993; Smith, 1994; Aldridge, 1995; Hawks, 1997).

La enfermedad es de distribución mundial y se puede presentar en cualquier época del año. *C. pseudotuberculosis* es una bacteria intracelular muy resistente al medio ambiente, sobrevive por bastante tiempo a la desecación, se puede encontrar viable en carne congelada, heces, exudado purulento y suelo por largos periodos e inclusive se reporta su supervivencia en soluciones antisépticas al menos por 24 horas sin reducción significativa en el conteo viable. Es capaz de sobrevivir en el medio ambiente que ha sido contaminado por animales infectados, las bajas temperaturas y condiciones de humedad prolongan el tiempo de supervivencia. La contaminación ambiental es por consiguiente considerada como el factor más importante de difusión de este microorganismo. *C. pseudotuberculosis* puede sobrevivir por periodos prolongados de tiempo (más de 6 meses) en ambientes contaminados y puede ser aislado de polvo, comederos, alimento, cercas, tijeras, baños de inmersión y muestras de suelo de alrededor de áreas ganaderas. La prevalencia de la infección en animales adultos puede ser muy alta, alcanzando cifras de 50 a 80% (Ashfaq y Campbell, 1980; Pijoan y Tórtora, 1986; Meldrum, 1990; Aldridge, 1995; Paton y col., 1996; Rizvi y col., 1997).

Se han realizado diversos estudios en cabras inoculando suspensiones bacterianas por vía subcutánea para conocer cuál es la concentración de *C. pseudotuberculosis* capaz de producir enfermedad y se ha determinado que la dosis infectante es de 10^7 UFC (Unidades Formadoras de Colonias) (Augustine y Renshaw, 1986; Gilmour, 1990; Kuria y col., 1998).

La supervivencia de la bacteria en varios fomites como paja, heno, suelo, agua e incluyendo superficies como plástico, madera y acero es por varios meses y este tiempo se amplía bastante cuando estos materiales se encuentran en temperaturas bajas (Augustine y Renshaw, 1986; Paton y col., 1995).

La LC se transmite por medio de heridas que se producen durante la esquila, descole, castración, o bien por traumatismos que ocurren en instalaciones muy rústicas. Las ovejas bañadas en fluidos contaminados si son esquiladas en un lapso de 2 semanas posteriores al baño son especialmente susceptibles a la infección debido al contacto entre las bacterias y la piel. La persistencia de *C. pseudotuberculosis* en el medio ambiente (pesebres, cercas, suelo, etc.) y en la piel intacta, favorece la transmisión, quizá el equipo contaminado sea de vital importancia, aunque se acepta que la fuente de bacteria virulenta es el exudado de los nodos linfáticos superficiales abscedados y fistulizados (Nairn y Robertson, 1974; Ashfaq y Campbell, 1980; Augustine y Renshaw, 1986; Meldrum, 1990; Gyles y Thoen, 1993; Serikawa y col., 1993; Paton y col., 1996).

Dos formas de la enfermedad se han descrito: la superficial y la visceral. La forma superficial involucra nodos linfáticos abscedados y agrandados que se localizan próximos a la superficie de la piel. Más comúnmente los nodos linfáticos alrededor de la cabeza (intermandibular, parótido, retrofaríngeo, y cervical) y nodos linfáticos cercanos al origen de los miembros (preescapular, prefemoral, y supramamario) son afectados. La segunda forma de la enfermedad involucra abscesos en los órganos internos y nodos linfáticos, y se asocian frecuentemente con debilidad crónica. Los órganos más comúnmente afectados son el pulmón y los nodos linfáticos asociados, riñón, hígado y nodos linfáticos mesentéricos. Ambas formas se encuentran en ovejas y cabras (LeaMaster y col., 1987; Gilmour, 1990; Meldrum, 1990; Edelsten, 1997; Hawks, 1997; Laven y col., 1997; Rizvi y col., 1997).

La oveja raramente presenta lesiones en cabeza y cuello y los abscesos se ven más comúnmente en los nodos linfáticos prefemoral y preescapular, mientras que en la cabra los nodos linfáticos frecuentemente involucrados son el mandibular y el parótido. Esto sugiere que en las cabras el microorganismo es más comúnmente adquirido a través de la mucosa bucal (Batey y col., 1986; Aldridge, 1995).

Típicamente un absceso puede alcanzar un diámetro de 5 -10 cm y está limitado por una firme cápsula fibrosa. El contenido es una espesa crema purulenta que se va solidificando con la edad. En la oveja el contenido es comúnmente verdoso y a menudo desarrolla una laminación concéntrica debida a las repetidas fases de necrosis y encapsulamiento. El depósito de gránulos calcáreos frecuentemente ocurre al margen de la lesión. En la cabra el contenido de los abscesos puede ser blanco cremoso, amarillento o verdoso; es inodoro y más pastoso que en la oveja; no tiene apariencia laminar y raramente calcifica (Pijoan y Tórtora, 1986; Jensen y Swifts, 1988; Meldrum, 1990; Lyndsay, 1991; Galina, 1992; Aldridge, 1995).

Los signos clínicos de la enfermedad pasan desapercibidos a menos que estén presentes los abscesos superficiales y a este nivel la infección es generalmente bien tolerada, sin embargo, la bacteria puede penetrar en los conductos linfáticos y causar abscesos viscerales. Estos se desarrollan más a menudo en los nodos linfáticos mediastínicos y bronquiales. Frecuentemente ocurren abscesos pulmonares múltiples y los animales corren el riesgo de contraer bronconeumonía extensa. No es raro que la infección ocurra en los nodos linfáticos supramamarios y testiculares, mientras que los órganos como el hígado, bazo y riñones pueden estar menos afectados. La afección visceral extensa da lugar a la enfermedad crónica, que causa el "síndrome de la oveja flaca" y su asociado fracaso reproductivo (Blood y col., 1983; Glass y col., 1993; Dercksen y col., 1996; Henze, 1998).

La detección de lesiones superficiales, a la necropsia y al aislamiento de la bacteria son determinantes para el diagnóstico. Actualmente existen también una gran variedad de pruebas promisorias de tipo serológico para diagnóstico de la LC (Lyndsay, 1991; Galina, 1992).

El agrandamiento unilateral de nodos linfáticos palpables, que se presentan como problema en rebaños, suelen ser debidos a esta enfermedad y posee valor para el diagnóstico la presencia de un exudado verdoso en estos nodos linfáticos. Pruebas serológicas, tales como, aglutinación bacteriana y la inhibición de la hemólisis son de valor en la identificación de cabras con inicios de la enfermedad (sin abscesos pero desarrollándose). Awad (1960) describió una técnica de aglutinación para el diagnóstico de la LC y un título por encima de 1:64 se considera significativo. La prueba de ELISA para la detección de la antitoxina puede detectar infecciones subclínicas de 30 hasta 60 días postinfección, mostrando una especificidad y una sensibilidad del 85% y es fácil de utilizar. Puede ser utilizada para el diagnóstico y como un instrumento de erradicación. Abdel Hamid (1975) reporta la prueba de protección en ratón, llamada "MP" (Mouse Protection), que fué comunicada como de valor para la detección de LC, especialmente cuando no hay lesiones externas. El diagnóstico diferencial de la enfermedad se deberá realizar con padecimientos, tales como, caquexia crónica, incluyendo mal nutrición, parasitismo, paratuberculosis, neoplasias, neumonía crónica enzoótica, adenomatosis pulmonar (Jaagsiekte), neumonía intersticial progresiva (Maedi Visna), actinobacilosis y linfadenitis supurativa por *Pasteurella multocida* (Hedden y col., 1986; Gilmour, 1990; Meldrum, 1990; Serikawa y col., 1993; Menzies y col 1994; Smith, 1994; Skalka y col., 1998; Sting y col., 1998).

La LC presenta ciertas dificultades para ser tratada debido al parasitismo intracelular de la bacteria y a la naturaleza encapsulada de las lesiones, esto dificulta que el antibiótico se ponga en contacto con el microorganismo y ejerza su efecto antimicrobiano. El tratamiento más eficaz contra los focos caseosos superficiales es la incisión quirúrgica a fin de eliminar el contenido, el cual puede fluidificar con soluciones clorinadas o lugol (Burrel, 1981; Gilmour 1990; Judson y Songer, 1991; Smith, 1994; Baird y Winter, 1997).

En un estudio realizado en Egipto, con 60 cepas de *C. pseudotuberculosis*, aisladas de ovejas, se concluyó que la mayoría de estas fueron sensibles *in vitro* a clortetraciclina, seguida por oxitetraciclina y penicilina lo mismo ocurrió con la oleandomicina plus y tetraciclina, pero no con la estreptomycinina o el cloranfenicol. Cuando el tratamiento se llevó *in vivo*, con animales infectados la clortetraciclina, la oxitetraciclina y penicilina dieron resultados similares (Nadim y Farid, 1973).

El control de la LC tiene gran importancia para las industrias caprina y ovina y se lleva a cabo con estrictas medidas de higiene en los pesebres y demás instalaciones en donde permanecen los animales, tratando en lo posible de disminuir la rusticidad de las mismas; mantener el ambiente libre de objetos

potencialmente cortantes; se deberán aislar los animales que presenten lesiones sugestivas de la enfermedad; hay que evitar que el exudado de los abscesos fistulizados se disemine en el medio ambiente y entre en contacto con el resto del rebaño; cualquier herida que presenten los animales sea accidental o quirúrgica debe ser tratada de inmediato con soluciones antisépticas; desinfectar el material que se utilizará para la trasquila; esquilarse hasta el final los animales afectados, empezando por los más jóvenes y acabando por los animales más viejos; llevar a cabo una adecuada pasteurización de la leche antes de su consumo. Junto con este plan de control muchas veces es necesario verificar la presencia de parasitosis graves en el rebaño y confirmar o descartar la existencia de un síndrome de mal nutrición asociado, puesto que éstos factores disminuyen en forma notable la resistencia de los animales (Pijoan y Tórtora, 1986; Girones y Simon, 1992; Dercksen y col., 1996; Edelsten, 1997; Hawks, 1997).

La respuesta inmune a *C. pseudotuberculosis* es compleja e incluye mecanismos celulares y humorales. Los linfocitos T, además de los macrófagos juegan un papel importante en la defensa del hospedero contra éste microorganismo. Estudios previos revelaron que el TNF- α (Factor de Necrosis Tumoral- α) y el IFN- γ (Interferón- γ) son esenciales para el desarrollo de los mecanismos de defensa contra la infección primaria de *C. pseudotuberculosis* en el hospedero (Scott y col., 1997; Simmons y col., 1998; Lan y Col., 1999).

Existen diferencias de distribución de lesiones en cabras y ovejas, y las vacunas para las ovejas han sido incapaces de proteger a las cabras jóvenes. Por consiguiente, la virulencia, patogénesis y el desarrollo de la inmunidad contra *C. pseudotuberculosis* puede diferir en las dos especies (Johnson y col., 1993).

Hay que realizar una limpieza mecánica y minuciosa de cada uno de los objetos que integran la unidad de producción, incluyendo los medios de transporte. En esencia la limpieza mecánica debe tener como objeto fundamental en primer término la eliminación de toda suciedad que propicie el desarrollo y proliferación de microorganismos patógenos, así como poner al descubierto a estos para garantizar una ulterior efectividad contraepizootica de las desinfecciones químicas. Al evaluar el proceso de desinfección, como parte del trabajo contraepizootico, desarrollado en las unidades de producción pecuaria debemos dar una especial atención a la reacción desinfectante-microorganismos la cual puede verse modificada por diferentes factores que determinan en ocasiones la baja efectividad de las desinfecciones. Entre ellas se destacan: a) la resistencia de los microorganismos; b) propiedades microbicidas de los desinfectantes; c) influencia del medio en que se realiza la desinfección; d) temperatura de la solución desinfectante; e) concentración del desinfectante y f) cantidad de solución desinfectante por unidad de área (Collins y Lyne, 1989; Tortora y col., 1989; Martínez y col., 1990; Bloomfield y col., 1991; Talaro y Talaro, 1993).

Las medidas de sanitización ambiental basadas en el lavado y desinfección de los alojamientos para los animales pueden eliminar al microorganismo de los fomites, sin embargo, pronto se recontaminan cuando animales infectados son introducidos. Después del sacrificio de un rebaño infectado, los sistemas de alojamiento se lavan usando agua a alta presión y se desinfectan con sosa cáustica (NaOH) al 2% y cal apagada, dosolajando los locales por 3 meses. El equipo de ordeño se lava y desinfecta utilizando ac. sulfonamídico al 0.15% y cloruro de sodio al 4.1% (Nord y col., 1998).

En un hato lechero de 150 vacas Jersey en período de lactación se determinó la eficacia de la clorhexidina al 0.35% como antiséptico de pezones, conteniendo un emoliente a base de glicerina para la prevención de infecciones intramamarias. El antiséptico experimental, redujo en un 49% las infecciones por especies de *Staphylococcus* coagulasa negativos, y en un 65.2% las infecciones por *Corynebacterium bovis* (Pankey y col., 1984; Oliver y col. 1990).

En un experimento que involucró a seis hatos lecheros comerciales y 291 vacas en un período de ocho meses, con la sanitización de ubres preordeño con un antiséptico a base polyvinylpyrrolidona (PVP) al 0.25%; el cual es un producto yodóforo, seguida por un secado con toallas de papel, fue comparado en cada hato con el tradicional lavado de ubres y secado individual con toallas de tela. La incidencia de nuevas infecciones intramamarias por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* y *Corynebacterium bovis*, fueron significativamente reducidas en 48%, 60% y 47%, respectivamente (Sérieys y Poutrel, 1996).

Se han realizado estudios en plantas para evaluar la eficacia de diferentes desinfectantes *in vitro* contra *Corynebacterium sepedonicum*, agente causal de la enfermedad del anillo podrido de las papas. Se evaluaron un total de 28 tratamientos desinfectantes y calor bajo varias condiciones. Una suspensión acuosa y cuantitativa se utilizó para medir la supervivencia de la bacteria en tiempos de 5 y 10 min. de exposición, con y sin la adición de materia orgánica, y por la desecación de la bacteria en madera como vehículo. De los tratamientos desinfectantes utilizados, 7 fueron a base de hipoclorito, 5 a base de cuaternarios de amonio, 4 a base de fenoles, 3 a base de yodo, 6 compuestos miceláneos, incluyendo; Cu-8-quinolinolado, formaldehído, ac. mercurial, etanol al 70%, peróxido de hidrógeno y sulfato de cobre. La sensibilidad al calor también fue evaluada por la inmersión de la madera con *C. sepedonicum* en agua a temperaturas de 49°, 66°, y 82°C. El microorganismo no sobrevivió a la mayoría de los tratamientos, pero hubo un control más constante en 10 min. de exposición que en 5 min. La eficacia del hipoclorito y del yodo fue reducida por la presencia de materia orgánica. La bacteria desecada, fue generalmente tan susceptible a los desinfectantes como la bacteria en suspensión. *C. sepedonicum*, puede ser eliminado efectivamente de superficies y equipo contaminado por la mayoría de los desinfectantes, estando la bacteria en contacto con estos por un mínimo de 10 minutos. Una temperatura mínima de 82° C por 5 minutos es requerida para completar la inactivación de la bacteria (Secor y col., 1988).

Respecto a la prevención se han utilizado diversos biológicos con resultados variables: vacunas, bacterinas y toxoides, cada uno de ellos posee ventajas y desventajas. Las bacterinas y vacunas probadas disminuyen significativamente el número de lesiones en los animales desafiados, pero no evitan en un 100 % la presentación de la enfermedad. El toxoide protege contra los efectos letales de la exotoxina, pero tampoco evita plenamente la aparición de abscesos. Experimentos de vacunación y observaciones de campo indicaron que los programas de vacunación para el control de la linfadenitis caseosa puede reducir la prevalencia de lesiones de LC en un 70 a 80% (LeaMaster y col., 1987; Davis y Spenley, 1992; Johnson y col., 1993; Walkwer y col., 1994; Paton y col., 1995; Brogden y col., 1996; Alves y Olander, 1999).

Se considera también la posibilidad de estimular con mayor eficacia la inmunidad contra *C. pseudotuberculosis* a base del cuerpo bacteriano y toxoide aplicados a temprana edad a los animales susceptibles, en el conocimiento de que la LC rara vez afecta a individuos menores de 3 meses por lo que la inmunización sería benéfica a esta edad (Menzies, 1991; Johnson y col., 1993; Smith, 1994; Pionkowski y Shivers, 1998).

El método más eficaz de prevenir la diseminación de la enfermedad y de limitar los efectos adversos es aislando a los animales infectados y extirpando quirúrgicamente los abscesos que contaminan el medio. Esta medida estará completa al eliminar a los animales severamente afectados y por un estricto control de la introducción de animales nuevos a un rebaño libre de LC (Smith, 1994; Pepin y col., 1999).

Aunque la LC raras veces es mortal en condiciones naturales, la pérdida económica que origina es cuantiosa, desde el decomiso de la canal afectada a nivel de rastro, ya sea parcial o total, hasta una reducción de parámetros reproductivos del rebaño, especialmente cuando la LC se asocia con problemas de mal nutrición y parasitosis. También ocasiona un decremento en la producción y calidad de la lana, así como una depreciación de las pieles y bajas en la producción de leche. Además de esto, es posible encontrar una baja eficiencia alimenticia y por lo tanto una menor ganancia de peso, lo cual disminuye considerablemente el valor económico de los animales (Harland, 1979; Alonso y col., 1992; Paton y col., 1994; Preece, 1997; Rizvi y col., 1997; Smith y col., 1997; Stanford, 1998).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la efectividad de cinco soluciones desinfectantes y dos antisépticas sobre *Corynebacterium pseudotuberculosis* por el método de Microensayo.

OBJETIVO PARTICULAR:

Realizar el aislamiento e identificación de *Corynebacterium Pseudotuberculosis* a partir de exudado purulento antes y después de ser sometido a las soluciones desinfectantes.

MATERIAL Y METODO

A) MATERIAL

1.- Colección de muestras.

Se acudió al rastro municipal de Tlalnepantla, Edo de Mex., para la recolección de 40 muestras sospechosas de L.C., a partir de cabras. La toma de muestras se llevó a cabo al momento de la inspección postmortem y los sitios de elección fueron aquellos que contenían abscesos, siendo principalmente nodos linfáticos, hígado y pulmón. Las muestras fueron inmediatamente transportados al Laboratorio de Microbiología (L-514, anexo) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo-4.

2.- Superficies a evaluar.

- Trozos de madera estériles de 1.8 cm x 0.8 cm.
- Trozos de metal (acero) estériles de 1.8 cm.

3.- Medios de cultivo para el desarrollo de *C. pseudotuberculosis*.

- Caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón).
- Agar Sangre.
- Medios para caracterización bioquímica.

4.- Tinción para la Tinción de Gram.

- Cristal Violeta.
- Lugol.
- Acetona.
- Safranina.

5.- Soluciones desinfectantes y antisépticas a evaluar.

- Formol al 2%.
- Fenol al 2% y al 5%.
- Ambietrol 8% (Producto comercial: Fenoles sintéticos, detergentes).
- NaOH al 2%.
- Cloro al 6%.
- Yodo al 2%.
- Benzal 1:100.

6.- Otros.

- Reactivos para identificación bacteriana.
- Suero estéril de equino

B) METODO

a) **Medios de Cultivo.** La preparación de los medios de cultivo para el aislamiento primario, la caracterización bioquímica y el método de Microensayo, fué realizada de acuerdo a las especificaciones marcadas para cada uno de ellos (Cowan, 1979). Para la preparación del agar sangre se le adicionó sangre desfibrinada de bovino, después del proceso de esterilización cuando presentó una temperatura de 45°C aproximadamente; a los medios utilizados para pruebas bioquímicas se les adicionó 0.1 ml de suero estéril de equino, para permitir un desarrollo adecuado del microorganismo.

b) **Aislamiento y Caracterización Bioquímica.** A partir de las muestras se realizó el aislamiento de la bacteria en agar sangre y la identificación fué de acuerdo a García (1980). El exudado purulento obtenido de las muestras fué inoculado antes y después de contaminar las superficies.

c) **Método de Microensayo.** En este se valoraron una serie de factores que contribuyen a que los resultados obtenidos durante su ensayo lo hagan un método de comprobación ideal.

Factores considerados en la técnica:

- Concentración de la solución utilizada.
- Tipo de microorganismo empleado.
- Presencia de materia orgánica.
- Tipo de material utilizado.

Este método se realiza bajo condiciones de esterilidad estrictas y se evalúa por ausencia o presencia de crecimiento bacteriano después de incubar la prueba a 37°C.

Evaluación de desinfectantes:

- En forma aséptica, se impregnó con un hisopo estéril el exudado purulento obtenido de los abscesos en cada una de las superficies empleadas; madera y acero estériles.
- Se incubaron durante 10 minutos en la estufa bacteriológica a 37°C.
- Posteriormente, con una pipeta estéril, se adicionó 0.1 ml de la solución desinfectante a cada material.
- Nuevamente se incubó por 10 minutos en la estufa bacteriológica a 37°C.
- Con las pinzas estériles, se tomó cada una de las superficies y se depositó por separado en un tubo de ensayo con 5 ml de caldo BHI.
- Por último se incubaron los tubos a 37°C durante 48 horas.

Evaluación de antisépticos:

- El exudado purulento (0.5 g) se colocó en cajas de petri estériles y se incubó en la estufa bacteriológica a 37°C por 10 minutos.
- Se adicionó posteriormente, 0.1 ml de la solución antiséptica, directamente sobre el exudado purulento.

- Nuevamente se incubó por 10 minutos en la estufa bacteriológica a 37°C.
- Con el asa bacteriológica estéril, se tomó el exudado purulento y se depositó por separado en un tubo de ensayo con 5 ml de caldo BHI.
- Por último se incubaron los tubos a 37°C durante 48 horas.

Pasadas las 48 horas, los tubos de ensayo se observaron inicialmente a contra luz y aquellos que llegaron a presentar turbidez por mínima que esta fuera, se dieron como positivos a crecimiento bacteriano en forma general, pero no precisamente de *C. pseudotuberculosis*, ya que posiblemente el desinfectante utilizado no tuvo efecto alguno sobre ésta bacteria y/o los microorganismos presentes en el medio. Los tubos de ensayo cuyo medio se observó sin turbidez, fueron dados como negativos a crecimiento bacteriano, es decir, que el desinfectante o antiséptico utilizado sí fue eficaz contra los microorganismos presentes en el exudado purulento y por lo tanto impidió su desarrollo en el medio de cultivo.

A cada uno de los tubos de ensayo con caldo BHI en los que se observó crecimiento bacteriano se les realizó la tinción de Gram para observar los microorganismos presentes en el medio (Cowan, 1979).

Realizadas las tinciones, las laminillas fueron observadas al microscopio, donde se buscó la morfología típica de *C. pseudotuberculosis*; bastones gram (+) con tendencia a agruparse en forma de empalizada o letras chinas.

Fueron dados como positivos (+) a la posible presencia de *C. pseudotuberculosis* todos aquellos tubos de ensayo en los que al observar las tinciones al microscopio se detectó la morfología y agrupación típicas de la bacteria. De estos tubos se tomó una muestra y se volvió a sembrar en agar sangre para confirmar que el microorganismo presente, efectivamente era *C. pseudotuberculosis*, además la identificación de la bacteria fue corroborada mediante pruebas bioquímicas. Los tubos de ensayo, cuyo medio presentó turbidez, pero que al observar sus tinciones al microscopio, no presentaron la morfología y agrupación típicas de la bacteria, fueron dados como negativos (-) a la presencia de *C. pseudotuberculosis*, sin embargo, fueron inoculados en agar sangre, en donde se determinó por pruebas primarias que los géneros a los que pertenecían, incluyeron: *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp* y *Bacillus sp*.

RESULTADOS

Con la técnica de Microensayo, se trató de determinar la eficacia de las soluciones desinfectantes sobre *C. pseudotuberculosis* presente en exudado purulento. Para lo cual se contaminaron 2 superficies (madera y metal) que pueden encontrarse comúnmente en el medio que rodea las explotaciones de pequeños rumiantes y son susceptibles de ser contaminadas.

En los Cuadros 1 y 2, se pueden observar las cepas de *C. pseudotuberculosis* que fueron susceptibles al efecto de las soluciones desinfectantes y las que no fueron inhibidas por algunas de ellas a diferentes concentraciones sobre superficies de metal y madera. En el cuadro 3 se puede observar la cantidad de cepas en las que fue inhibido el desarrollo bacteriano y en las que sí se presentó crecimiento de microorganismos, así como los porcentajes de efectividad que tuvieron las diferentes soluciones desinfectantes sobre la bacteria en cuestión.

En el Cuadro 3, se puede observar que las soluciones desinfectantes evaluadas, en general fueron más eficaces contra los microorganismos presentes en las superficies metálicas que en las superficies de madera, a excepción del Formol al 2% que fue eficaz en ambas superficies, pero aún más sobre la madera.

La Gráfica 1 muestra el número de cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* que desarrollaron en el caldo BHI cuando fue colocada la superficie metálica contaminada con exudado purulento y en la Gráfica 2 se puede observar el porcentaje de efectividad en general de los desinfectantes evaluados sobre la superficie metálica; en las Gráficas 3 y 4 se mencionan los mismos resultados pero en la superficie de madera .

De acuerdo a estos resultados, la solución desinfectante que inhibió el desarrollo en mayor número de cepas de *C. pseudotuberculosis* y en orden decreciente de efectividad fueron: Formol al 2%, siguiéndole el Fenol al 5%, NaOH al 2%, Cloro al 6%, Ambietrol 8% y finalmente Fenol al 2% (Gráfica 5).

En cuanto al porcentaje promedio de efectividad del desinfectante, sin importar el tipo de material utilizado, se obtuvo lo siguiente: Formol al 2% con 91.43%; Fenol al 2% con 62.86%; Fenol al 5% con 78.57%; NaOH al 2% con 74.29%; Ambietrol 8% con 65.71%; Cloro al 6% con 74.29%, (ver Cuadro 3 y Gráfica 6).

Con respecto a las soluciones químicas de Benzal 1:100 y Yodo al 2%, no fueron utilizadas en la técnica de Microensayo, debido a que comúnmente se emplean como soluciones antisépticas, por lo cual, fueron evaluadas

directamente sobre el exudado purulento encontrándose que el Yodo al 2% fué más eficaz, ya que inhibió el desarrollo de mayor número de cepas de *C. pseudotuberculosis* con respecto al Benzal 1:100, (ver Cuadros 4 y 5; Gráfica 7).

Para las soluciones antisépticas (Yodo al 2% y Benzal 1:100), los resultados en base a los porcentajes de efectividad, fueron los siguientes: Yodo al 2% con 80.00% y Benzal 1:100 con 65.71%, (ver Cuadro 5 y Gráfica 8).

En lo que se refiere a los cultivos realizados en medio de agar sangre, fué posible recuperar 35 cepas de *C. pseudotuberculosis* a partir del exudado purulento que fué utilizado en las superficies, posteriormente sólo fueron recuperadas las cepas e identificadas como: C₁, C₈, C₁₃, C₁₇, C₂₃, C₂₅, C₂₇, C₂₈, C₂₉ y C₃₂, que no fueron sensibles al efecto de las soluciones desinfectantes y de los tubos de ensayo con caldo BHI inoculados con estas cepas y de otros tubos que presentaron turbidez, también fueron aislados otro tipo de bacterias que incluyeron: *Bacillus sp.*, *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus sp.*

CUADRO 1
 Resultados de las pruebas de Microensayo en cepas de *C. pseudotuberculosis* para evaluar la efectividad de 5 soluciones desinfectantes sobre una superficie de metal.

CEPA	FÓRMOL 2%	FENOL 2%	FENOL 5%	NaOH 2%	AMBIOL	CLORO 6%	CONTROL
C 1	-	-	-	-	-	-	-
C 2	-	-	+	-	-	-	-
C 3	-	-	-	-	-	-	-
C 4	-	-	-	-	-	-	-
C 5	-	-	-	+	+	-	-
C 6	+	-	-	-	-	-	-
C 7	-	-	-	-	-	-	-
C 8	-	-	-	-	-	-	-
C 9	-	-	-	-	-	-	-
C 10	-	-	-	-	-	-	-
C 11	-	+	-	-	+	-	-
C 12	-	-	-	-	-	-	-
C 13	-	+	-	-	-	-	-
C 14	-	-	-	-	-	-	-
C 15	-	-	-	-	-	-	-
C 16	-	-	-	-	-	-	-
C 17	+	+	-	-	-	+	-
C 18	-	+	-	-	-	+	-
C 19	-	-	-	-	-	-	-
C 20	-	-	-	-	-	-	-
C 21	-	-	-	-	-	-	-
C 22	-	-	-	-	-	-	-
C 23	-	+	-	-	-	+	-
C 24	-	-	-	-	+	+	-
C 25	-	+	+	+	-	-	-
C 26	+	-	-	-	+	+	-
C 27	-	-	-	+	+	-	-
C 28	-	+	+	+	-	-	-
C 29	-	+	-	-	+	-	-
C 30	-	+	-	-	-	-	-
C 31	-	-	-	-	-	+	-
C 32	+	+	-	-	-	-	-
C 33	-	-	-	-	-	-	-
C 34	-	-	-	-	+	+	-
C 35	-	-	-	-	-	-	-

(+) Bastones gram (+) en empalizada o letras chinas, posible presencia de *C. pseudotuberculosis* a la observación microscópica.

(-) Ausencia de bastones gram (+) a la observación microscópica.

CUADRO 2

Resultados de las pruebas de Microensayo en cepas de *C. pseudotuberculosis* para evaluar la efectividad de 5 sol. desinfectantes sobre una superf. de madera

CEPA	FORMOL 2%	FENOL 2%	FENOL 5%	NaOH 2%	AMBIETROL	CLORO 6%	CONTROL
C 1	-	+	-	+	+	-	-
C 2	-	-	-	-	-	-	-
C 3	-	+	-	+	+	-	-
C 4	-	+	-	-	+	-	-
C 5	-	-	-	-	-	-	-
C 6	-	-	-	-	+	+	-
C 7	-	+	+	+	-	-	-
C 8	-	+	+	+	+	-	-
C 9	-	-	-	-	+	+	-
C 10	-	-	-	-	-	+	-
C 11	-	-	-	+	-	-	-
C 12	-	+	-	+	-	-	-
C 13	-	+	+	-	+	+	-
C 14	-	+	-	-	-	-	-
C 15	-	-	-	+	-	-	-
C 16	-	-	-	-	-	-	-
C 17	-	-	+	+	-	-	-
C 18	-	-	-	-	+	+	-
C 19	-	-	+	+	-	-	-
C 20	-	+	-	-	-	-	-
C 21	-	-	-	+	+	-	-
C 22	-	+	+	-	-	+	-
C 23	-	+	-	-	+	+	-
C 24	-	+	+	-	+	+	-
C 25	-	+	+	-	+	-	-
C 26	-	+	-	-	+	-	-
C 27	-	-	+	+	+	-	-
C 28	+	-	-	+	-	-	-
C 29	+	+	-	-	+	-	-
C 30	-	-	+	-	-	-	-
C 31	-	-	+	-	-	-	-
C 32	-	-	+	+	+	+	-
C 33	-	+	-	+	+	+	-
C 34	-	-	-	-	-	+	-
C 35	-	-	-	-	-	-	-

(+) Bastones gram (+) en empalizada o letras chinas, posible presencia de *C. pseudotuberculosis* a la observación microscópica.

(-) Ausencia de bastones gram (+) a la observación microscópica.

CUADRO 3

Resultado obtenidos de la evaluación de 5 desinfectantes sobre 35 cepas de *C. pseudotuberculosis* en presencia de exudado purulento impregnado en superficies de metal y madera respectivamente

Desinfectantes	No. de (+)		No. de (-)		% de efectividad		Total (+)	Total (-)	% prom. Efectividad
	metal	madera	metal	madera	metal	madera			
Formol 2%	4	2	31	33	88.57	94.29	6	64	91.43
Fenol 2%	10	16	25	19	71.43	54.29	26	44	62.86
Fenol 5%	3	12	32	23	91.43	65.71	15	55	78.57
NaOH 2%	4	14	31	21	88.57	60.00	18	52	74.29
Ambietrol 8%	7	17	28	18	80.00	51.43	24	46	65.72
Cloro 6%	7	11	28	24	80.00	68.57	18	52	74.29

(+) Presencia de *C. pseudotuberculosis* al aislamiento

(-) Ausencia de *C. pseudotuberculosis*

CUADRO 4

Resultados de la evaluación de 2 antisépticos sobre exudado purulento

CEPA	Yodo al 2%	Benzal 1:100
C 1	+	+
C 2	-	-
C 3	-	+
C 4	-	+
C 5	-	+
C 6	-	+
C 7	-	-
C 8	-	-
C 9	-	-
C 10	-	+
C 11	-	+
C 12	-	-
C 13	-	-
C 14	-	-
C 15	-	+
C 16	+	-
C 17	-	-
C 18	+	+
C 19	+	-
C 20	-	+
C 21	+	-
C 22	+	-
C 23	-	+
C 24	-	-
C 25	+	-
C 26	-	+
C 27	-	-
C 28	-	-
C 29	-	-
C 30	-	-
C 31	-	-
C 32	-	-
C 33	-	-
C 34	-	-
C 35	-	-

(+) Presencia de *C. pseudotuberculosis* al aislamiento.(-) Ausencia de *C. pseudotuberculosis*.

CUADRO 5

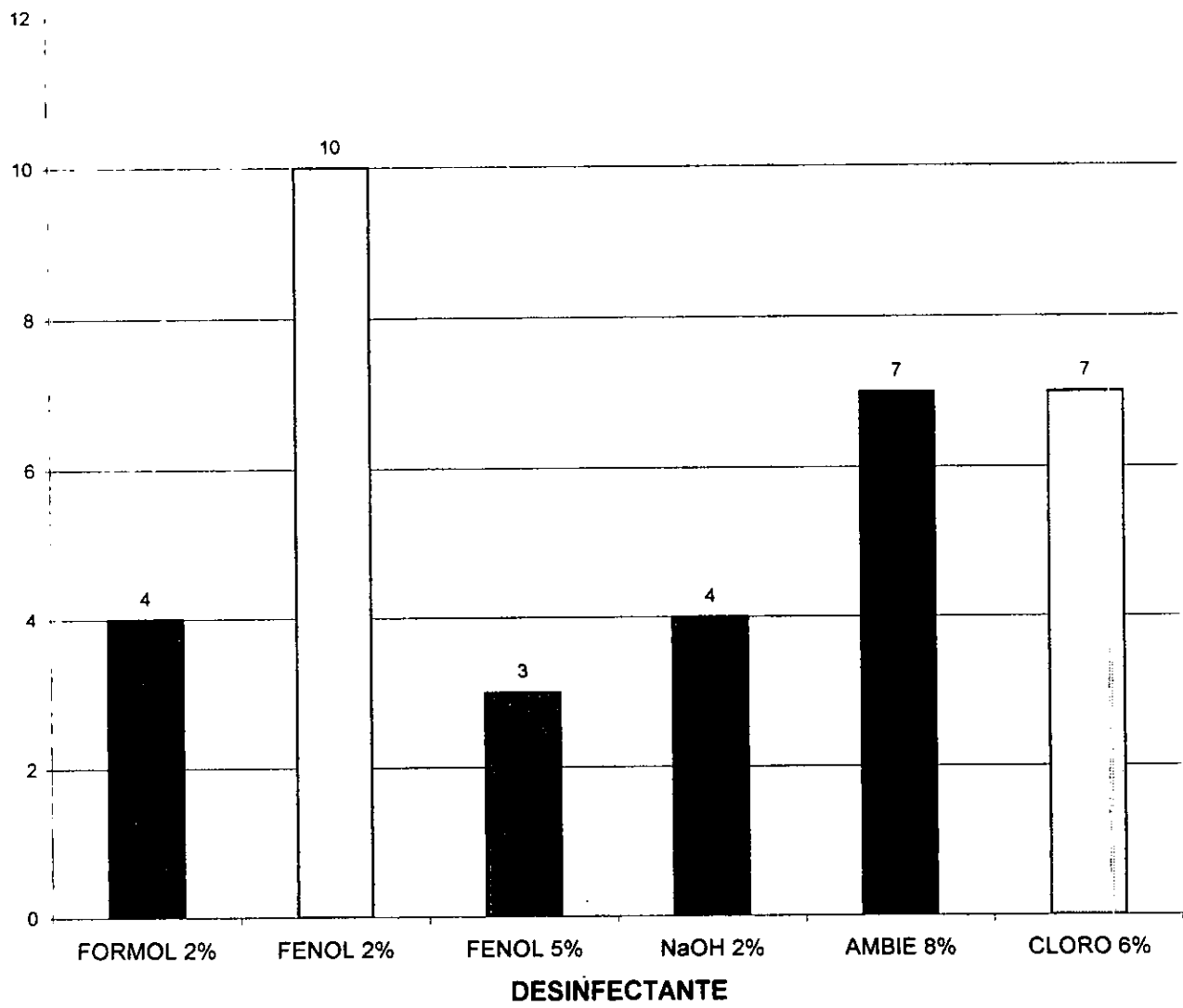
Porcentajes obtenidos de la evaluación de 2 antisépticos sobre exudado purulento.

Antisépticos	% de (+)	% de (-)	Total (+)	Total (-)
Yodo al 2%	20.00	80.00	7	28
Benzal 1:100	34.29	65.71	12	23

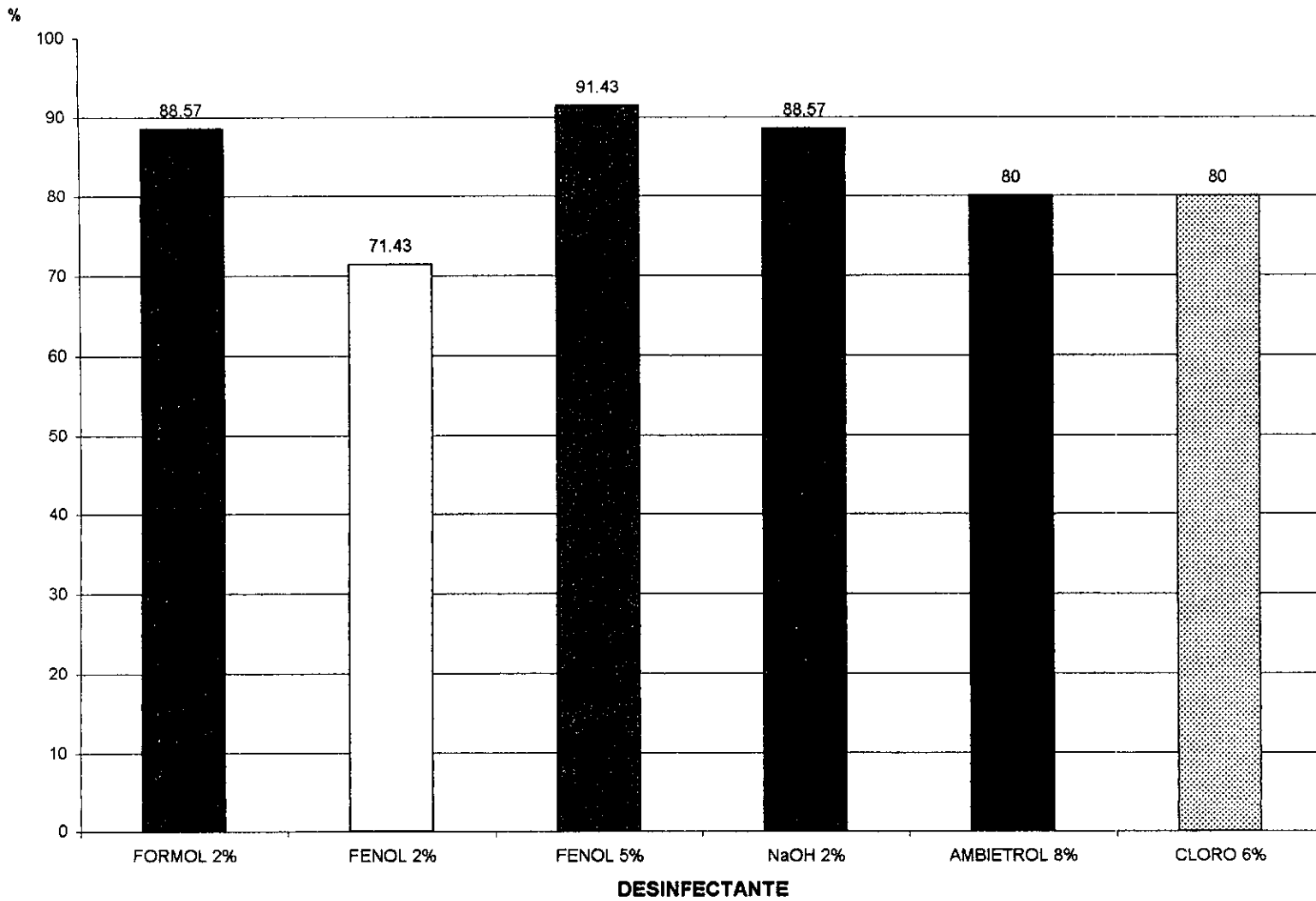
(+) Presencia de *C. pseudotuberculosis* al aislamiento.

(-) Ausencia de *C. pseudotuberculosis*.

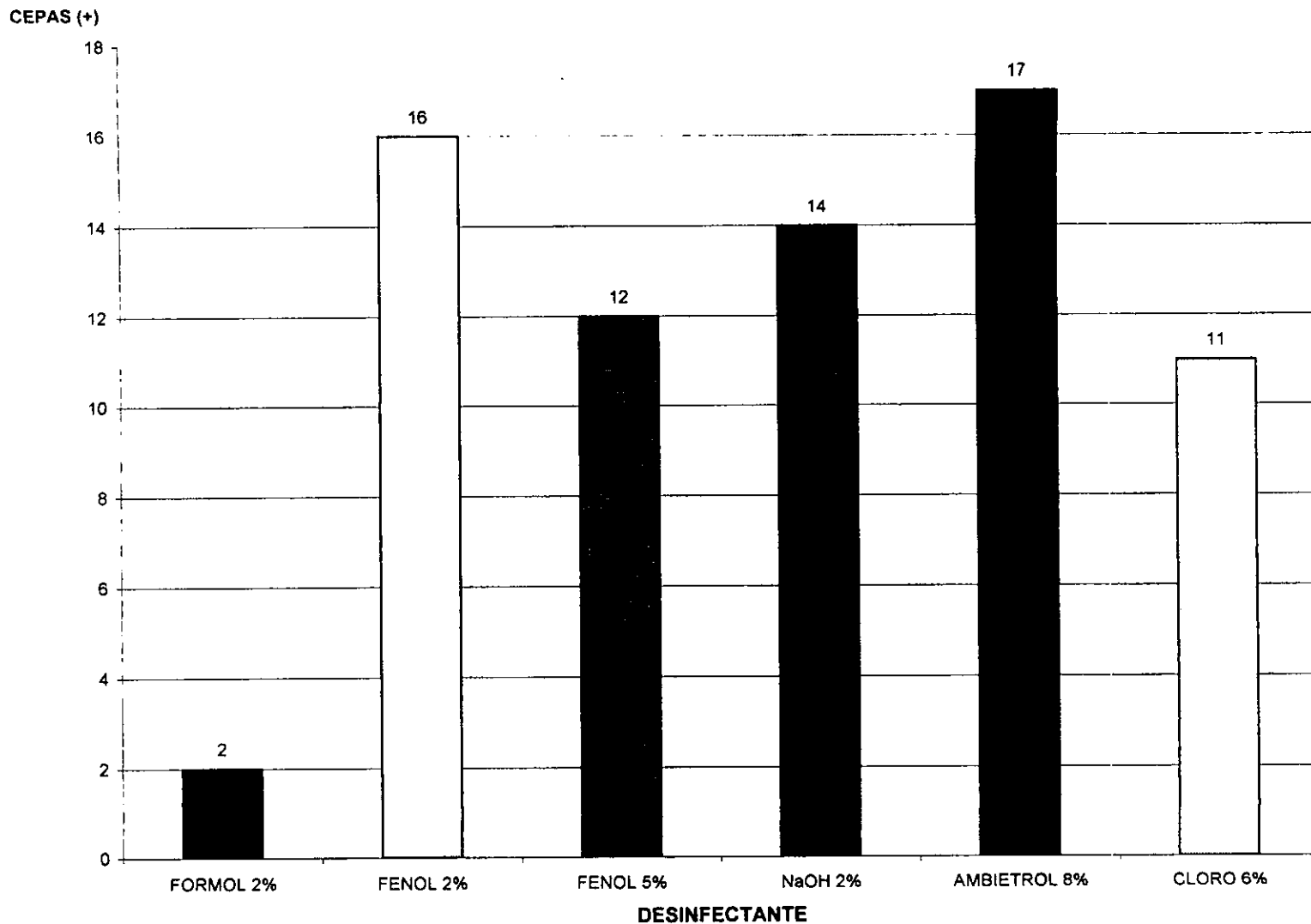
CEPAS (+) **GRAFICA 1. NUMERO DE CEPAS DE *C. pseudotuberculosis* EN PRESENCIA DEL DESINFECTANTE EN SUPERFICIE DE METAL**



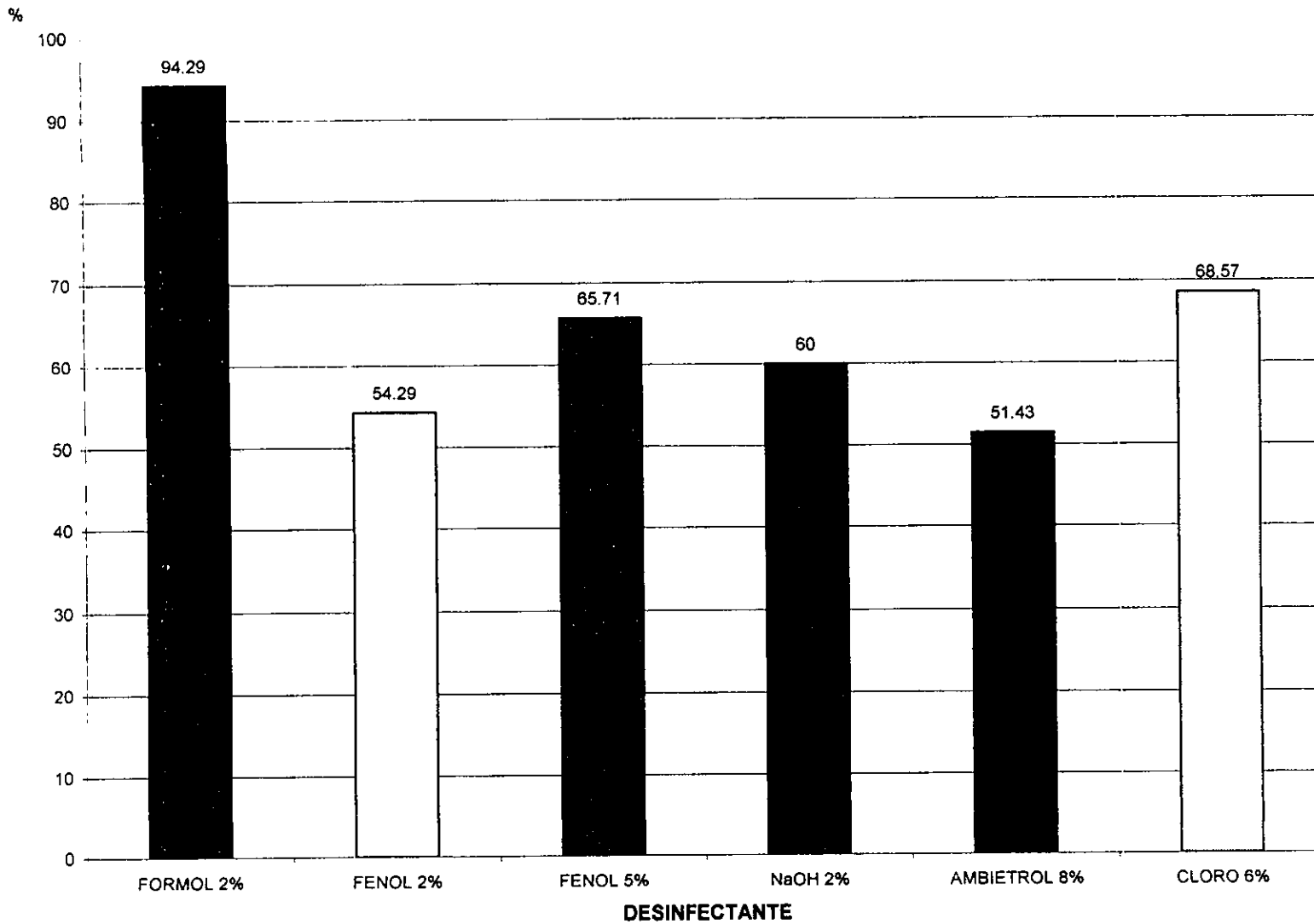
GRÁFICA 2. PORCENTAJE DE EFECTIVIDAD DE LOS DESINFECTANTES SOBRE SUPERFICIE DE METAL



GRAFICA 3. NUMERO DE CEPAS DE *C. pseudotuberculosis* EN PRESENCIA DEL DESINFECTANTE EN SUPERFICIE DE MADERA

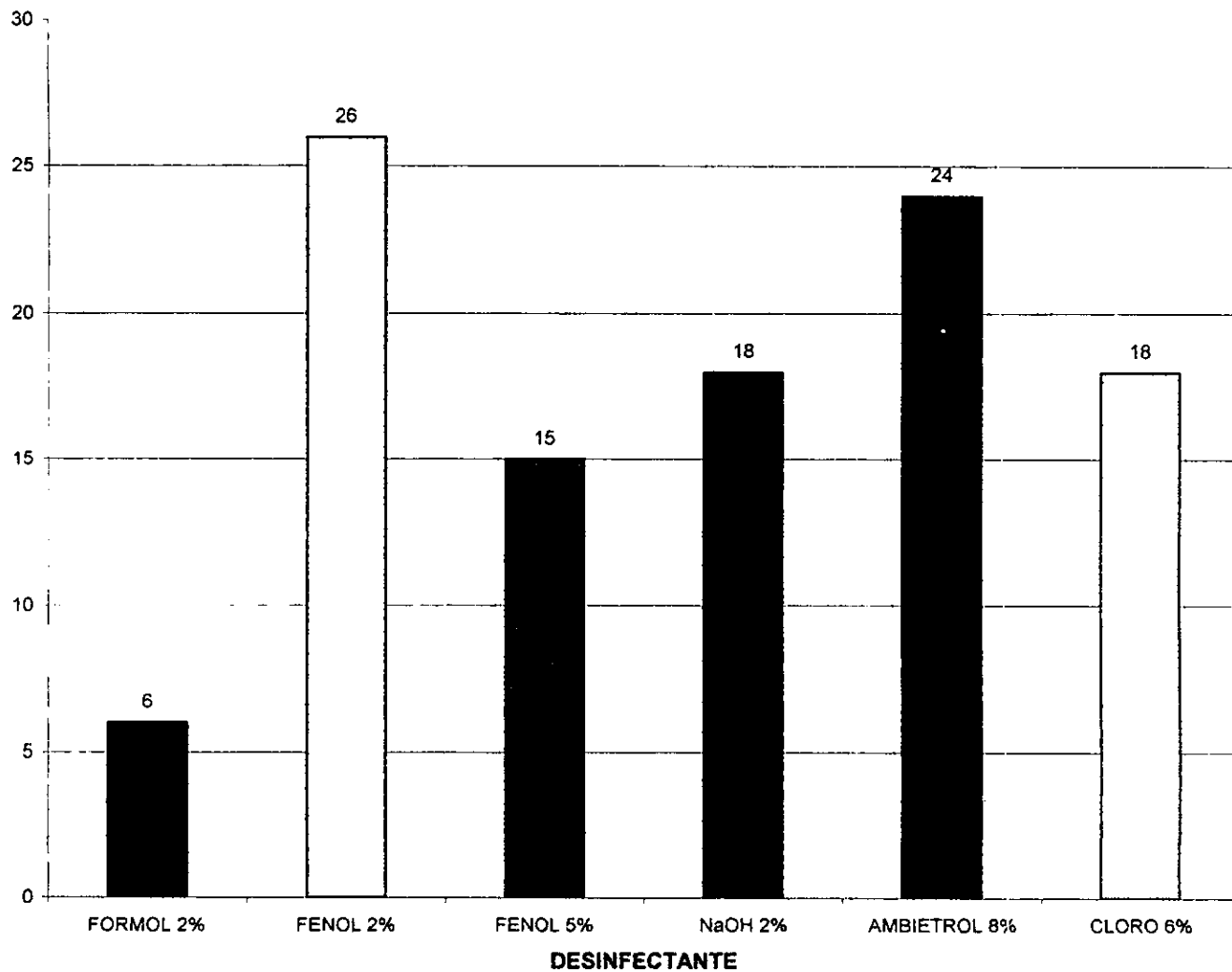


GRAFICA 4. PORCENTAJE DE EFECTIVIDAD DE LOS DESINFECTANTES SOBRE *S. ENTERITIDIS* SUMIDA.

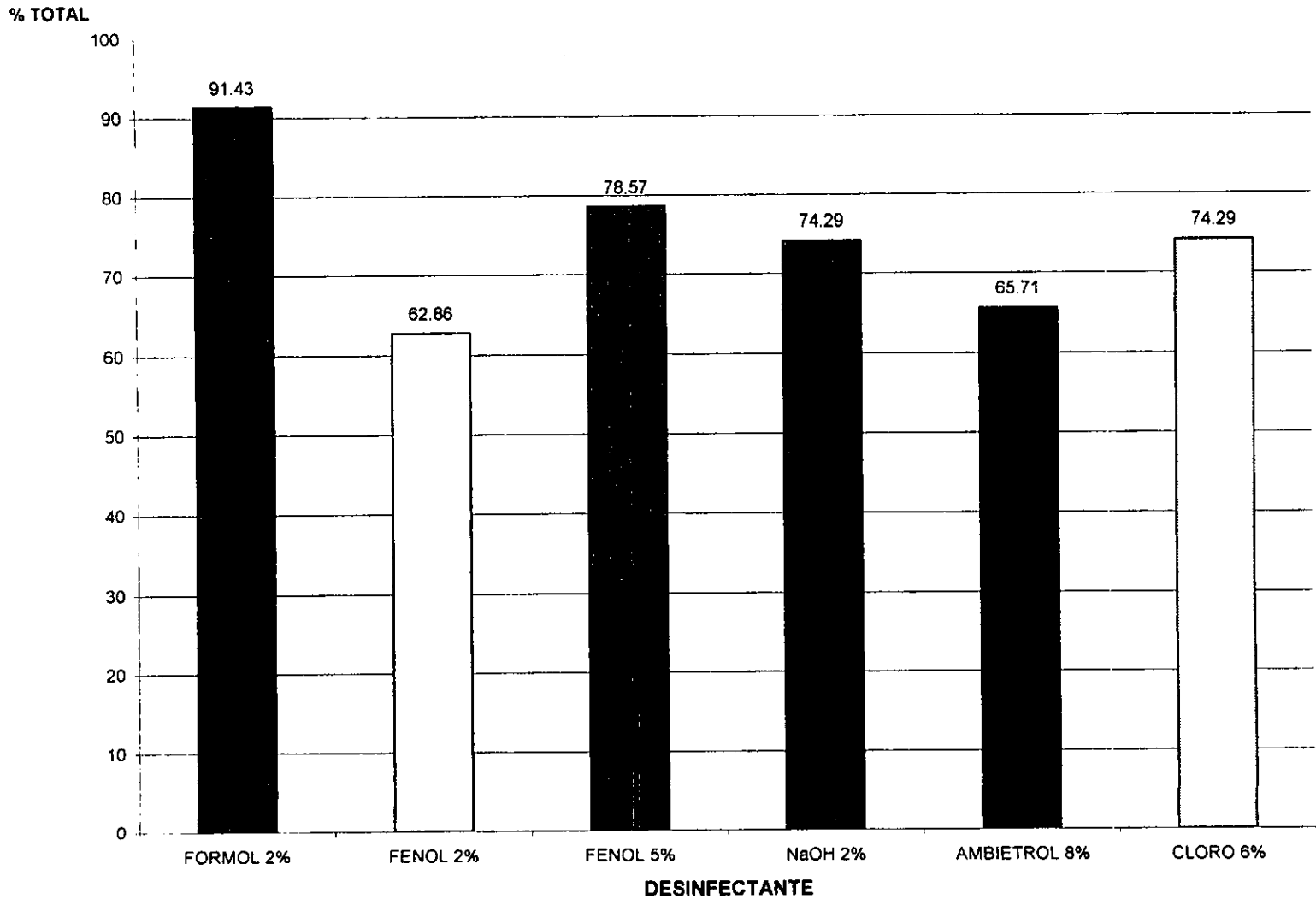


GRAFICA 5. TOTAL DE CEPAS DE *C. pseudotuberculosis* EN PRESENCIA DE DESINFECTANTES EN DIFERENTES SUPERFICIES

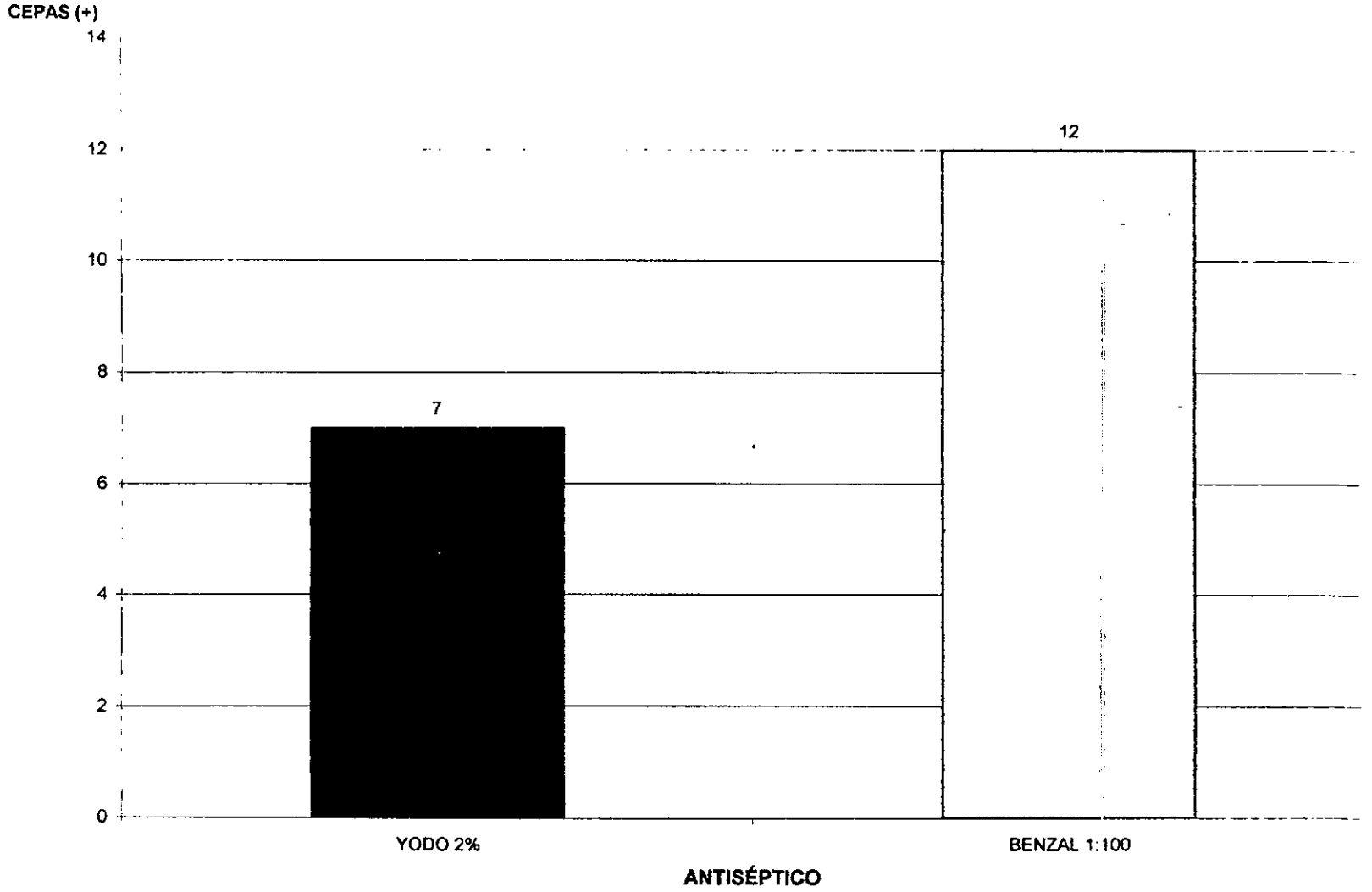
TOTAL DE CEPAS (+)



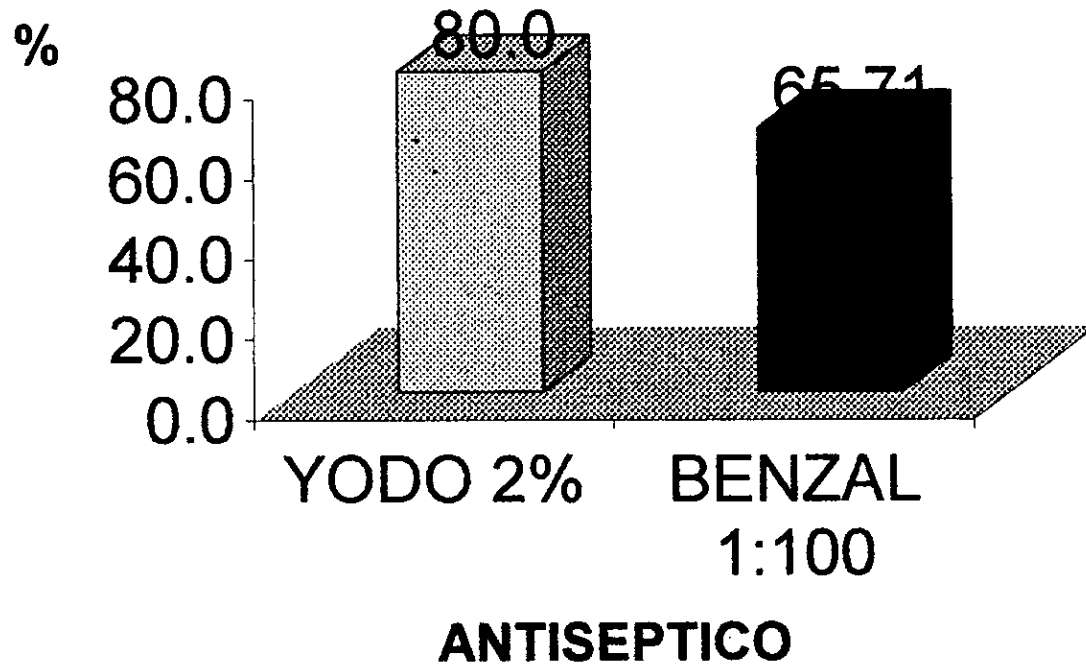
GRAFICA 6. PORCENTAJE TOTAL DE EFECTIVIDAD DE LOS DESINFECTANTES SOBRE DIFERENTES SUPERFICIES



GRAFICA 7. NUMERO DE CEPAS DE *C. pseudotuberculosis* EN PRESENCIA DE ANTISÉPTICOS SOBRE EXUDADO PURULENTO



GRAFICA 8. PORCENTAJE DE EFECTIVIDAD DE LOS ANTISÉPTICOS SOBRE EXUDADO PURULENTO



DISCUSION

Diversos estudios han revelado que *C. pseudotuberculosis* puede sobrevivir por largos períodos de tiempo cuando se inocula en fomites estériles que comúnmente se encuentran en las instalaciones de pequeños rumiantes (Nadim, 1973).

Previas especulaciones acerca de la diseminación de *C. pseudotuberculosis* en las poblaciones de borregos y cabras mencionan que el microorganismo tiene un período de vida corto fuera del hospedero; sin embargo, se ha determinado que el exudado purulento es el vehículo responsable de la contaminación ambiental y en él la bacteria tiene un largo período de supervivencia, sobre todo cuando se mezcla con partículas como paja, heces y heno, debido a que forman micelas que pueden ser un mejor factor para la supervivencia bacteriana (Chandiramani, 1982).

Considerando lo anterior es importante conocer cuales soluciones desinfectantes y antisépticas son factibles de utilizar para la eliminación de *C. pseudotuberculosis* presente en exudado purulento. Los resultados obtenidos en este trabajo nos muestran que el Formol al 2% es muy efectivo en superficies lisas, lo mismo que el Fenol al 5%, a diferencia del Fenol al 2% que tiene un índice de efectividad menor, lo cual coincide también en un trabajo (Villegas, 1999) previamente realizado en el cual el Fenol al 2%, resultó ser menos efectivo contra *C. pseudotuberculosis* que otras soluciones desinfectantes y esto es de relevancia debido a que el Fenol es considerado el patrón oficial para la evaluación de la efectividad de soluciones desinfectantes, porque su mecanismo de acción no es alterado en forma importante en presencia de materia orgánica, sin embargo, con estos resultados podemos deducir que la concentración del Fenol al 2% no es tan eficaz contra *C. pseudotuberculosis*, como lo es el Fenol al 5% que tuvo una actividad microbicida importante sobre la bacteria aún en presencia de materia orgánica.

Se pudo observar que la efectividad de la solución desinfectante fue mayor sobre metal, es decir, una superficie lisa y su actividad se redujo cuando fueron aplicados sobre la madera, que tiene una superficie porosa y quizás sea debido a que el desinfectante es adsorbido a tal grado que la concentración de la solución se reduce notablemente y puede llegar a disminuir por debajo de su umbral bactericida.

Con respecto a las soluciones antisépticas, el Yodo al 2% fue superior al Benzal 1:100 y esto coincide con trabajos previos en los cuales, empleando tintura de yodo en heridas visibles en ovinos producidas durante la esquila, 3 meses después se encontró una reducción significativa en el número de animales positivos a L.C. por pruebas de ELISA (Sting, 1998).

Por último, también a partir de los tubos de ensayo cuyo medio presentó turbidez, se aislaron otro tipo de bacterias que incluyeron: *Bacillus sp.*, *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus sp.*, lo cual coincide con algunos autores, los cuales mencionan en la literatura que estos microorganismos forman parte de la flora bacteriana de acompañamiento de *C. pseudotuberculosis* en problemas de Linfadenitis Caseosa (Harland, 1973).

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

CONCLUSIONES

Al término de este trabajo se concluye que:

1.- Las soluciones desinfectantes evaluadas, en general fueron más eficaces sobre superficies de metal que sobre superficies de madera.

2.- De las soluciones desinfectantes evaluadas, el índice de efectividad contra *C. pseudotuberculosis* en presencia de exudado purulento sobre superficie de metal (acero) fué, en orden decreciente: Fenol al 5% con 91.43%; Formol al 2% con 88.57%; NaOH al 2% con 88.57%; Cloro al 6% con 80.00%; Ambietrol 8% con 80.00% y Fenol al 2% con 71.43%.

3.- De las soluciones desinfectantes evaluadas, el índice de efectividad contra *C. pseudotuberculosis* en presencia de exudado purulento sobre superficie de madera fué, en orden decreciente: Formol al 2% con 94.29%; Cloro al 6% con 68.57%; Fenol al 5% con 65.71%; NaOH al 2% con 60.00%; Fenol al 2% con 54.29% y Ambietrol 8% con 51.43%.

4.- De las soluciones desinfectantes evaluadas, el índice promedio de efectividad contra *C. pseudotuberculosis* en presencia de exudado purulento, indistintamente de la superficie utilizada fué, en orden decreciente: Formol al 2% con 91.43%; Fenol al 5% con 78.57%; Cloro al 6% con 74.29%; NaOH al 2% con 74.29%; Ambietrol 8% con 65.72% y Fenol al 2% con 62.86%.

5.- De las soluciones antisépticas evaluadas, el índice de efectividad contra *C. pseudotuberculosis* en presencia de exudado purulento fué, en orden decreciente: Yodo al 2% con 80.00% y Benzal 1:100 con 65.71%.

BIBLIOGRAFIA

- Aldridge, Martin. (1995). *Corynebacterium pseudotuberculosis*. En Internet. <http://livabs.masseay.ac.nz/MLIVSA/ass/micro/pseudo.htm>
- Alonso, J. L.; Simón, M. C.; Girónes, O.; Muzquiz, J. L.; Ortega, C. and García, J. (1992). The effect of experimental infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* on reproduction in adult ewes. Res. Vet. Sci. 52:267-272.
- Alves, F. S. F. and Olander, H. J. (1999). Skin test of goats vaccinated and infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Pesq. Agro. Bras. 34: 1313-1318.
- Ashfaq, M. K. and Campbell, S. G. (1980). Experimentally Induced Caseous Lymphadenitis in Goats. Am. J. Vet. Res. 41:1789-1791.
- Augustine, J. L. and Renshaw, H. W. (1986). Survival of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in axenic purulent exudate on common barnyard fomites. Am. J. Vet. Res. 47:713-715.
- Baird, G. and Winter, A. C. (1997). Caseous lymphadenitis: an increasing cause for concern. Vet. Rec. 140:611.
- Batey, R. G.; Speed, C. M. and Kobes, C. J. (1986). Prevalence and distribution of caseous lymphadenitis in feral goats. Aust. Vet. J. 63:33-36.
- Blood, D. C.; Henderson, J. A. y Radostits, O. M. (1983). Medicina Veterinaria. Nueva Editorial Interamericana. 5ª ed. México.
- Bloomfield, S. F.; Arthur, M.; Looney, E.; Begun, K. and Patel, H. (1991). Comparative testing of disinfectant and antiseptic products using proposed European suspension testing methods. Letters in Applied Microbiology. 13:233-237.
- Brogden, K. A.; Glenn, J. S.; East, N. and Audibert, F. (1996). A *Corynebacterium pseudotuberculosis* bacterin with muramyl dipeptide induces antibody titers, increases the time of onset and decreases naturally occurring external abscesses in sheep and goats. S. Rum. Res. 19:161-168.
- Burrell, D. H. (1981). Caseous Lymphadenitis in Goats. Aust. Vet. J. 57:105-110.
- Collins, C. H. y Lyne, P.M. (1989). Métodos Microbiológicos. Ed. Acribia. España.

Cowan, S. T. y Steel J. K. (1979). Manual para la Identificación de Bacterias de Importancia Médica. 1ª ed. Ed. C.E.C.S.A.

Chandiramani, N. K. and Garg, D. N. (1982). *Corynebacterium ovis* infection in sheep with special reference to epidemiology, pathogenesis, diagnosis and immunity. Veterinary Public Health, Haryana Agricultural University.

Davis, E. W. and Spenley, M. J. (1992). Use of Antigenus Bateria-Toxoid to prevent *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in horses. J. Vet. Med. 6:137.

Dercksen, D. P.; Laak, E. A. and Schreuder, B. (1996). Eradication Programme for Caseous Lymphadenitis in Goats in the Netherlands. Vet. Rec. 138:137.

Edelsten, M. (1997). Control of caseous lymphadenitis. Vet. Rec. 141:631.

Favier, B.; Richard, Y. and Oudar, J. (1990). Bacteriological Study of 58 Strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Rev. Med. Vet. 141:43-47.

Galina, M. A. (1992). Enfermedades de las Cabras. Ed. U.N.A.M.-U. de C. México.

García, V. S. (1980). Aislamiento y caracterización de corinebacterias a partir de muestras de ovinos y caprinos de México. Tesis profesional. ENEPC-UNAM.

Gilmour, N. J. (1990). Caseous Lymphadenitis: A cause for concern. Vet. Rec. 9:566.

Girones, O. and Simon, M. C. (1992). Caseous Lymphadenitis. II Clinical Course, Diagnosis, Treatment and Prophylaxis. Med. Vet. 9:149-155.

Glass, E. N.; DeLahunta, A. and Jackson, C. (1993). Brain Abscess in Goat. Cornell. Vet. 83:275-282.

Guillespie, J. y Timoney, J. (1983). Linfadenitis Caseosa en Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. Ed. Prensa Médica Mexicana. 4ª ed. México.

Gyles, C.L. and Thoen, Ch. (1993). *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Ed. Iowa State University Press/Ames. 2ª ed. Iowa.

Harland, W. R. (1979). Visceral Caseous Lymphadenitis in thin ewes syndrome: isolation of *Corynebacterium*, *Staphylococcus* and *Moraxella* spp. from internal abscess in emaciated ewes. Am. J. Vet. Res. 40:1110-1113.

Hawks Mountain Ranch. (1997). Caseous Lymphadenitis. En Internet. www.hawksmountainranch.com

Martínez, M. P.; Figueroa, H. M.; López, C. J. y Fernández, C. (1990). Higiene Pecuaría para Técnicos Medios en Zootecnia. Editorial Pueblo y Educación. Cuba.

Meldrum, K. C. (1990). Caseous Lymphadenitis Outbreak. *Vet. Rec.* 126:369.

Menzies, P. I.; Muckle, C. A. and Brogden, K. A. (1991). A field trial to evaluate a whole cell vaccine for the prevention of caseous lymphadenitis in sheep and goat flocks. *Prev. Vet. Res.* 55:362-366.

Menzies, P. I.; Muckle, C. A.; Hwana, Y. T. and Songer, J. G. (1994). Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay using an *Escherichia coli* recombinant phospholipase D antigen for the diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. *S. Rum. Res.* 13:193-198.

Nadim, M. A. and Farid, A. (1973). Caseous lymphadenitis in sheep in Egypt. II. Trials for treatment both *in vitro* and *vivo*. *JEVMA.* 12: 19-32.

Nadim, M. A. and Farid, A. (1973). Bacteriological studies on the isolates *C. ovis* strains. III. Trials for treatment both *in vitro* and *vivo*. *JEVMA.* 12:33-43.

Naim, M. E. and Robertson, J. P. (1974). *Corynebacterium pseudotuberculosis* Infection of Sheep: role of skin lesions and dipping fluids. *Aust. Vet. J.* 50:537-542.

Nord, K.; Holstad, G.; Eik, L. O. and Gronstol, H. (1998). Control of Caprine Arthritis-Encephalitis Virus and *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in a Norwegian goat herd. *Acta Vet. Scand.* 39:109-117.

Oliver, S. P.; King, S. H.; Lewis, M. J.; Torre, P. M.; Matthews, K. R. and Dowlen, H. H. (1990). Efficacy of Chlorhexidine as a Postmilking Teat Disinfectant for the Prevention of Bovine Mastitis During Lactation. *J. Dairy Sci.* 73:2230-2235.

Pankey, J. W.; Boddie, R. L. and Philpot, W. N. (1984). Evaluation of Linear Dodecyl Benzene Sulfonic Acid as a Teat Dip in a Commercial Dairy. *J. Dairy Sci.* 67:1354-1358.

Paton, M. W.; Rose, I. R.; Hart, R. A.; Sutherland, S. S.; Mercy, A. R.; Ellis, T. M. and Dhaliwa, J. A. (1994). New infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* reduces wool production. *Aust. Vet. J.* 71:47-49.

Paton, M. W.; Sutherland, S. S.; Rose, I. R.; Hart, R. A.; Mercy, A. R. and Ellis, T. M. (1995). The spread of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection to unvaccinated and vaccinated sheep. *Aust. Vet. J.* 72:266-269.

Paton, M.; Rose, I.; Hart, R. and Ellis, T. (1996). Post shearing management effects the seroincidence of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in sheep flocks. *Prev. Vet. Med.* 26:275-284.

Hedden, J. A.; Thomas, C. M.; Songer, J. G. and Olson, G. B. (1986). Characterization of lectin-binding lymphocytes in goats with caseous lymphadenitis. *Am. J. Vet. Res.* 47:1265-1267.

Henze, P. (1998). Regurgitation - a possible symptom in the visceral form of caseous lymphadenitis in goats. *Prak. Tier.* 79:771-773.

Jensen and Swifts. (1988). *Diseases of Sheep*. Ed. Lea & Febiger. 3rd ed. Philadelphia.

Johnson, E. H.; Santa Rosa, J. and Kass, P. H. (1993). Immunizing effects of live *Corynebacterium pseudotuberculosis* in goats. *S. Rum. Res.* 12:349-356.

Johnson, E. H.; Vidal, C. E. S.; Santa Rosa, J. and Kass, P. H. (1993). Observations on goats experimentally infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *S. Rum. Res.* 12:357-369.

Judson, R. and Songer, G. J. (1991). *Corynebacterium pseudotuberculosis* in vitro, susceptibility to 39 antimicrobial agents. *Vet. Mic.* 270:145-150.

Kuria, J. K. N.; Wahome, R. G. and Kang'ethe, E.K. (1998). Caseous lymphadenitis in goats: The dose of infection and the serological response. *Indian J. Anim. Sci.* 68:601-604.

Lan, D. T. B.; Makino, S.; Shirahata, T.; Yamada, M. and Nakane, A. (1999). Tumor Necrosis Factor Alpha and Gamma Interferon are Required for the Development of Protective Immunity to Secondary *Corynebacterium pseudotuberculosis* Infection in Mice. *J. Vet. Med. Sci.* 61:1203-1208.

Laven, R. A.; Fishwick, J. C.; Pritchard, G. C. and Jackson, P. G. G. (1997). Generalised caseous lymphadenitis. *Vet. Rec.* 141:479.

LeaMaster, B. R.; Shen, D. T.; Gorham, J. R.; Leathers, C. W. and Wells, H. D. (1987). Efficacy of *Corynebacterium pseudotuberculosis* bacterin for the immunologic protection of sheep against development of caseous lymphadenitis. *Am. J. Vet. Res.* 48:869-872.

Lyndsay, H. and Lloyd, S. (1991). Diagnosis of Caseous Lymphadenitis in goats. *Vet. Rec.* 128:86.

McFaddin, J. F. (1976). *Biochemical test for Identification of Medical Bacteria*. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.

Pepin, M.; Sanchis, R. and Paton, M. (1999). Caseous lymphadenitis in sheep and goats. *Point Vet.* 30:34-40.

Pijoan, P. y Tórtora, J. (1986). Principales Enfermedades de los Ovinos y Caprinos. FESC-UNAM. México.

Piontkowski, M. D. and Shivers, D. W. (1998). Evaluation of a commercially available vaccine against *Corynebacterium pseudotuberculosis* for use in sheep. *J.A.V.M.A.* 212:1765-1768.

Preece, B. E. (1997). Screening for caseous lymphadenitis. *Vet. Rec.* 141:527.

Rizvi, S.; Green, L. E. and Glover, M. J. (1997). Caseous lymphadenitis: an increasing cause for concern. *Vet. Rec.* 140:586.

Scott, P. R.; Collie, D. D. S. and Hume, L. H. (1997). Caseous lymphadenitis in a commercial ram stud in Scotland. *Vet. Rec.* 141:548-549.

Secor, G. A.; DeBuhr, L. and Gudmestad, N. C. (1988). Susceptibility of *Corynebacterium sepedonicum* to Disinfectants In Vitro. *Am. Phyt. Soc.* 72:585-588.

Sériey, F. and Poutrel, B. (1996). Field trial evaluation of two teat dips containing nisin or polyvinylpyrrolidone iodophor designed for use before and after milking. *Vet. Res.* 27:295-303.

Serikawa, S.; Ito, S.; Hatta, T.; Kusakari, N.; Senna, K.; Sawara, S.; Hiramune, T.; Kikuchi, N. and Yanagawa, R. (1993). Seroepidemiological Evidence that Shearing Wounds are Mainly Responsible for *Corynebacterium pseudotuberculosis* Infection in Sheep. *J. Vet. Med. Sci.* 55:691-692.

Simmons, C. P.; Dunstan, S. J.; Tachedjian, M.; Krywult, J.; Hodgson, A. L. M. and Strugnell, R. A. (1998). Vaccine potential of attenuated mutants of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep. *Infection and Immunity.* 66:474-479.

Skalka, B.; Literak, Y.; Michalik, I. and Skrivanek, M. (1998). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in goats in the Czech Republic. *J. Vet. Med.* 45:31-35.

Smith, M. (1994). *Goat Medicine.* Ed. Lea & Febiger. U.S.A.

Smith, I. J.; Squires, M. B.; McGregor, H. and Coles, G. C. (1997). Caseous lymphadenitis: an increasing cause for concern. *Vet. Rec.* 140:635.

Stanford, K.; Brogden, K. A.; McClelland, L. A.; Kozub, G. C. and Audibert, F. (1998). The Incidence of Caseous Lymphadenitis in Alberta Sheep and Assessment of Impact by Vaccination with Commercial and Experimental Vaccines. *Can. J. Vet. Res.* 62:38-43.

Sting, R.; Steng, G. and Spengler, D. (1998). Serological studies on *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in goats using enzyme linked immunosorbent assay. *J. Vet. Med.* 45:209-216.

Sutherland, S. S.; Speijer, E. and Andrés, B. (1989). Comparison of the exotoxins of four strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Res. Vet. Sci.* 47:190-194.

Talaro, K. and Talaro, A. (1993). *Foundations in Microbiology*. Wm. C. Brown Publishers. U.S.A.

Tortora, G. J.; Funke, B. R. and Case, Ch. L. (1989). *Microbiology An Introduction*. The Benjamin/Cummings Publishing Company. Inc. 3^a ed. U.S.A.

Villegas, A. E.; Benitez, S. C. (1999). Evaluación de la sensibilidad a diferentes desinfectantes in vitro en 30 cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Tesis profesional. M.V.Z. F.E.S.C.-U.N.A.M.

Walkwer, J.; Jackson, A. and Eggleton, D. G. (1994). Identification of a novel antigen from *Corynebacterium pseudotuberculosis* that protects sheep against caseous lymphadenitis. *Infection and Immunity.* 62:2562-2567.

Zhao, H. K.; Yonekawa, K.; Takahashi, T.; Kikuchi, N.; Hiramune, T. and Yanagawa, R. (1993). Isolation of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from the cervical canal of clinically normal sows. *Res. Vet. Sci.* 55:356-359.