



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

196500

“EVALUACION DE ANTISEPTICOS Y DESINFECTANTES CONTRA Corynebacterium pseudotuberculosis UTILIZANDO LA PRUEBA DE DIFUSION EN DISCO”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
J. CESAR URIBE AVILA

ASESORES: M. V. Z. SUSANA E. GARCIA VAZQUEZ
M. V. Z. SILVIANO TREJO NUÑEZ



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijarés  
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 Antisépticos y Desinfectantes contra  
Corynebacterium pseudotuberculosis utilizando la  
Prueba de Difusion en Disco "

que presenta El pasante: J. Cesar Uribe Avila  
con número de cuenta: 8452300-0 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 25 de Mayo de 2001

PRESIDENTE	<u>M.V.Z. Susana García Vázquez</u>	
VOCAL	<u>M.V.Z. Rodolfo Ibarrola Uribe</u>	
SECRETARIO	<u>M.V.Z. Marco Antonio Mendoza Saavedra</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>M.V.Z. Rodolfo Cordova Ponce</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>M.V.Z. Joaquín Rivera Quiroz</u>	

## DEDICATORIAS

Dedico esta tesis primeramente a **DIOS**, por darme la oportunidad de vivir.

A mis padres *Alicia y Manuel* por darme la vida.

Con todo cariño a mi mamá, *DOMI*, donde quiera que te encuentres, se que siempre estarás conmigo.

A mi esposa *LETY* por su comprensión y dedicación a mis hijos .

A mis hijos *Cesarín y Brandolín*

A mi familia, y en especial a *María Luisa y Luis Manuel* por brindarme su apoyo.

*A Manuelito y Chanito.*

A mi amigo *Cesar Bravo Leal.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A los asesores que dirigieron esta tesis por su tiempo y dedicación **DIOS** los bendiga gracias.

**MVZ Susana Elvira García Vázquez**  
**MVZ Silvano Trejo Nuñez**

Al personal que labora en el Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la F.E.S. Campo 4

A los Profesores que me apoyaron en mi formación académica y profesional.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, como el “alma mater”

Y en particular a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por abrigarme y brindarme el saber, “**mil gracias**”.

**A los Sinodales:**

**MVZ Susana Elvira García Vázquez**  
**MVZ Rodolfo Ibarrola Uribe**  
**MVZ Marco Antonio Mendoza Saavedra**  
**MVZ Rodolfo Cordova Ponce**  
**MVZ Joaquin Rivera Quiroz**

## I N D I C E

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
OBJETIVOS.....	12
MATERIAL Y METODO.....	13
RESULTADOS.....	17
DISCUSION.....	27
CONCLUSIONES.....	29
BIBLIOGRAFIA.....	30

## RESUMEN

El presente trabajo se realizó para evaluar diferentes antisépticos y desinfectantes *in vitro* en cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* (aisladas a partir de cabras con linfadenitis caseosa) utilizando la técnica de Difusión en Disco para determinar cual de las soluciones utilizadas es más eficaz contra esta bacteria. Se midieron los halos de inhibición con el calibrador Vernier y los resultados se expresaron en milímetros (mm).

Las soluciones desinfectantes y antisépticas que se emplearon durante el desarrollo de este trabajo fueron: Formol al 2%; NaOH al 2%; Fenol al 2%; Fenol al 5%; Yodo al 2%; Isodine; Benzal al 10%; Benzal al 1:100; Cloro al 6%; o-Fenil Fenol o-Bencil Clorofenol p-Terciario Amilfenol ( Ambietrol) y Violeta de Genciana.

En base a los resultados obtenidos se observó que dentro de los desinfectantes que presentaron un alto porcentaje de eficacia contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* fueron o-Fenil Fenol o-Bencil Clorofenol p-Terciario Amilfenol desinfectantes contenidos en una presentación comercial denominada Ambietrol 100%, Cloro al 6% 97.1%, Formol 2% con 91.42%, presentaron menor porcentaje de eficacia Fenol al 5% con 42.85%, NaOH al 2% con 28.5% y Fenol al 2% con 25.7%.

Se graficó la frecuencia de las 35 cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* para cada antiséptico que presentaron determinados halos de inhibición encontrándose que el Yodo al 2% presentó una inhibición de 15 mm en un cultivo bacteriano, sin embargo 10 cultivos bacterianos presentaron 10 mm, para el Isodine se observó un halo de inhibición mayor de 21 mm en un cultivo bacteriano y se presentaron halos de inhibición de 13 mm en 7 cultivos y 15 mm en otras 7 cepas en el Benzal al 10% el halo de inhibición de 18 mm se encontró con una frecuencia de 11 veces, en el Benzal al 1:100 se obtuvo una frecuencia de 5 y un halo de 20 mm también se observaron mayores halos de inhibición con respecto a los demás antisépticos, con el Violeta de Genciana en un cultivo bacteriano se encontró una inhibición de 31 mm y 9 cultivos con halo de inhibición de 20 mm.

Al término de este trabajo se concluye que las soluciones desinfectantes y antisépticas más eficaces contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* en la prueba de Difusión en Disco y que se recomiendan para su uso son la presentación comercial de fenoles sintéticos denominada Ambietrol, Benzal 1:100, Violeta de Genciana, Cloro al 6%, Formol al 2% y Benzal al 10%

## INTRODUCCIÓN

### Antisépticos y Desinfectantes.

Cuando se utilizan agentes químicos por lo general se está hablando de desinfección: estos agentes en su mayoría no tienen un efecto esterilizante, aunque destruyen virtualmente todos los microorganismos patógenos. Sólo algunos desinfectantes pueden tener efecto esterilizante cuando se usan apropiadamente, tal es el caso del Formaldehído, Fenol, Glutraldehído, Oxido de etileno y el Peróxido de hidrógeno. ( Quin, 1994, Perez y col. 1990).

El término desinfección puede definirse entonces como la acción de restar a una población de microorganismos su potencial infeccioso, eliminando a las bacterias patógenas. Enfatizamos una vez más que, a diferencia con la esterilidad, en el caso de la desinfección todavía puede haber microorganismos vivos en el área en que se produjo la acción de desinfectar. ( Quin 1994, Perez y col. 1990).

Estrictamente hablando la desinfección se aplica fundamentalmente a objetos inanimados. Sin embargo, existen algunos desinfectantes que no producen daño tisular y por lo tanto pueden aplicarse sobre superficies corporales. A éstos se les conoce como antisépticos. Así pues, se entiende por antisepsia a la acción de eliminar microorganismos patógenos directamente de los tejidos vivos. Como ejemplos de antisépticos pueden citarse el Alcohol etílico, la tintura de Yodo, Cloruro de benzalconio, Timerosal y el Mercurocromo. ( Quin 1994, Perez y col 1990).

Los mecanismos de acción de los gemicidas sobre las células bacterianas, para destruirlas, son muy variadas, por lo que citaremos solo los más conocidos.

- A. Por precipitación de proteínas (Fenoles, Formol, Alcohol y Jabones cuaternarios).
- B. Por formación de nuevos compuestos al combinarse con el protoplasma bacteriano (Sales de mercurio, Plata, Cobre, Zinc, Cloro, Hipocloritos de sodio y de calcio).
- C. Por oxidación (Agua Oxigenada, Permanganato de potasio).
- D. Colorantes.

#### Condiciones que determinan la efectividad de la desinfección

El efecto de los desinfectantes sobre los gérmenes puede ser modificado por las condiciones en que se realiza la desinfección, entre las más importantes son:

1. Las características del germen contra el cual se realiza la desinfección; ya que entre ellos existen distintas variedades de acuerdo con su resistencia ante los desinfectantes, pudiendo establecer dos categorías.  
Muy resistente: En el que se incluyen los gérmenes que producen el Antrax, Carbón Sintomático y el Tétanos.

Menos resistentes: En el que se incluyen la mayoría de los gérmenes productores de una gran cantidad de enfermedades conocidas en nuestro país.

2. Propiedades bactericidas de los desinfectantes, que significa el efecto que los desinfectantes producen en los microorganismos; para esto es necesario conocer el mecanismo mediante el cual los desinfectantes producen la muerte de los gérmenes.
3. Influencia del ambiente: la acción de los desinfectantes sobre los gérmenes puede producirse en un medio gaseoso, líquido, viscoso o sólido, en este medio pueden encontrarse gran cantidad de sustancias orgánicas las cuales influirán tanto sobre el preparado como sobre los gérmenes. En el medio líquido, por ejemplo el agua, puede producirse un rápido contacto entre el desinfectante y el germen, en el medio sólido: estiércol, suelo, una gran cantidad de sustancias orgánicas impiden el contacto entre el germen y la sustancia química y al combinarse con éste último disminuye sus propiedades desinfectantes.  
Para obtener una desinfección eficaz es necesario que los elementos infectados tengan contacto directo con el desinfectante, la deducción práctica de esto, es que se necesita liberar totalmente el objeto a desinfectar de todas las sustancias orgánicas para crear las condiciones para contacto directo entre ambos elementos (gérmenes y sustancias químicas).
4. La temperatura de la solución desinfectante juega también un importante papel en el resultado final de la desinfección, ya que a mayor temperatura mayor es la penetración de la sustancia química sobre el germen. La elevación de la temperatura permite acelerar las acciones que ejerce el desinfectante sobre los gérmenes.
5. La concentración del desinfectante en la solución se determina mediante la investigación en el laboratorio y en la práctica, de cuáles son las cantidades necesarias del producto para conseguir el efecto deseado sobre los gérmenes. (Pérez, y col.1990; Sumano, 1997).

### LINFADENITIS CASEOSA

El agente causal de la Linfadenitis Caseosa (LC) es *Corynebacterium pseudotuberculosis* (conocido también como *Corynebacterium ovis*) bacteria Gram (+) con forma de cocobacilo o bastón corto. La enfermedad se presenta ampliamente en muchos países en forma endémica, afecta un gran número de ovinos y caprinos, causando pérdidas económicas importantes debido a que incide reduciendo la tasa de crecimiento, la eficiencia reproductiva, decomiso de canales y devaluación de la piel (García, 1986; Brown, 1987; Cáster, 1992: Pepin y col, 1999).

La bacteria se considera primariamente patógena para ovinos y caprinos pero *Corynebacterium pseudotuberculosis* también infecta equinos, bovinos, primates, cerdos y humano. En el hombre, la ingestión es considerada como una ruta de infección, sin embargo la enfermedad clínica en el hombre es extremadamente rara ( Brown, 1987; Quin, 1994; Smith, 1994; Baxter, 1997 ).

Se han identificado 2 biotipos de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. El biotipo 1, que afecta ovinos y caprinos es negativo a la prueba de nitratos, en tanto el biotipo 2, es positivo a esta misma prueba y afecta a los equinos, ambos biotipos tienen la capacidad de infectar a los bovinos. Es importante hacer notar que el microorganismo no produce LC en bovinos y equinos. En bovinos produce linfadenitis ventral, dermatitis ulcerativa y abscesos. La infección puede sanar con o sin tratamiento y no afecta la producción. En equinos los signos clínicos involucran una linfangitis ulcerativa afectando los miembros y la región pectoral (Nicolet, 1984; García y Ciprian, 1986; Cáster, 1992; Yeruham, 1997; Baxter, 1997).

*Corynebacterium pseudotuberculosis* es un parásito intracelular facultativo, esto se debe a su elevado contenido de lípidos en la pared celular siendo capaz de resistir la destrucción por medio de la fagocitosis, por lo tanto tiende a producir una infección de tipo crónico. La patogénesis de la enfermedad está relacionada también a la presencia de una exotoxina que tiene la actividad de fosfolipasa y es designada como Fosfolipasa D, esta substancia es leucocida y daña las células endoteliales ( Galina, 1992; Aldridge, 1995; Baxter, 1997; Yeruham, 1997; Simmons y col, 1998).

La LC se caracteriza por la presencia de abscesos en linfonodos superficiales. Estos nodos afectados pueden romperse causando la eliminación de una descarga purulenta hacia el medio ambiente. Sin embargo es común que los linfonodos y pulmones se vean afectados dando lugar a la forma visceral de la enfermedad en la cual puede causar una neumonía focal o generalizada, pleuresía y otras infecciones extensivas internas, las cuales pueden ser detectadas a la inspección post mortem (Gylés, 1983; García y Ciprian, 1986; Pepin y col, 1999).

La fuente principal de la infección es la descarga purulenta de los abscesos que se rompen. El microorganismo puede sobrevivir en el medio ambiente por grandes periodos de tiempo (Ellis, 1983; Stoops, 1984; Blood y col., 1987; Arbiza, 1988).

Una vez que un animal desarrolla un absceso en un linfonodo será considerado infectado de por vida por lo cual se recomienda su eliminación del rebaño, si esto no es posible de manera inmediata, se recomienda drenar los abscesos antes de que se rompan, incidiéndolos verticalmente para lograr un mejor drenado, su contenido se recolectara para su destrucción, se aplicará un antiséptico como la tintura de Yodo y se aislará el animal del resto del rebaño. La diseminación de la infección puede originar cuadros patológicos de artritis (cojeras) y manitis clínicas con presencia de linfonodos y secreción láctea de aspecto purulento.

En el pulmón se detectan, sobre todo en ovejas, áreas de bronconeumonía crónica y linfonodos afectados. Este cuadro ocasiona una marcada dificultad respiratoria. La nueva compra de borregos y cabras deberá ser de rebaños libres de la enfermedad y se mantendrán aislados de los animales infectados (Galina, 1986; Blood y col. 1987; Haws, 1997; Perea y col, 1999).

Las medidas preventivas deben incluir el control de ectoparásitos, evitar el uso de objetos afilados o punzocortantes utilizados previamente en diversas prácticas de manejo, deberán ser esterilizados o desinfectados con soluciones de Clorhexidina (Novolsan) o Cloro, esto permite un decremento en la posibilidad que penetre la bacteria en la piel. Es muy importante considerar que la bacteria tiene una tasa alta de supervivencia en el medio ambiente y que es eliminada a través del exudado purulento proveniente de los abscesos, por lo que se contaminan el suelo, corrales, utensilios, etc., si esto sucede será necesario realizar una limpieza profunda y después emplear soluciones desinfectantes adecuadas para la destrucción de la bacteria e impedir que siga la fuente de contaminación para los animales susceptibles. Las instalaciones donde permanecen los animales deberán estar libres de clavos, alambres y otros objetos que podrían ocasionar lesiones en la piel, debe de evitarse en lo posible la rusticidad de las instalaciones. En los países industrializados se incluyen dentro de las medidas para controlar la enfermedad la eliminación estricta y obligada de todos aquellos animales con linfonodos superficiales palpables agrandados o en los que se presenten abscesos. La aplicación de medidas higiénicas rigurosas y continuas en los corrales, así como el aislamiento y la eliminación de los animales con LC, lo mismo que evitar que el exudado de los abscesos fistulizados se disemine por el ambiente y entre en contacto con el resto del rebaño, son medidas importantes para lograr el control de esta enfermedad. Cualquier herida que presenten los animales sea accidental o quirúrgica debe ser tratada con una solución antiséptica, se recomienda también en el caso de borregos trasquilar primero a los animales jóvenes y después a los adultos y aquellos animales que presenten abultamientos superficiales dejarlos al final. Los recién nacidos deberán ser tratados con una solución de lodo en el cordón umbilical al nacimiento, las crías deberán ser cambiadas de lugar para que no sean contaminadas. La separación de rebaños infectados y aparentemente no afectados es una medida que limita la difusión de la enfermedad (Piojan y Tortora, 1986; Tortora, 1989; Dercksen, 1996; Edelsten, 1997)

En Estados Unidos se ha utilizado una vacuna para borregos contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* llamada Case - Bac y se demostró una reducción significativa en el número de abscesos (<http://www.pipevet.com/articles/Caseous-Lymphadenitis>).

En un reciente estudio se evaluó en una infección experimental de Linfadenitis Caseosa la bacterina - toxoide Caseous D-T contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* conteniendo además toxoide de *C. perfringes* tipo D y toxoide de *C. tetani* para la prevención de abscesos internos y externos en 20 borregos de 8 a 10 semanas de edad que fueron vacunados 2 veces, 4 semanas después de la primera aplicación se inyectó en forma

subcutánea 2 ml de Caseous D-T , 11 borregos de la misma edad sirvieron como controles y no fueron vacunados. Los animales vacunados y los controles fueron desafiados por inyección en varios sitios con una cepa de *Corynebacterium pseudotuberculosis* (diferente a la cepa vacunal). 32 semanas después de la infección experimental se realizó el exámen post-mortem; en promedio se encontraron de 1.2+/-2 abscesos externos en 18 borregos vacunados y un promedio de 26.8+/-23.8 de abscesos externos en 10 controles, solo se encontraron 2 abscesos internos en 18 vacunados (en promedio 0.1+/-0.3) y en tanto 6.8+/-5.9 abscesos internos en 10 controles. Los autores concluyen que la vacunación con la combinación de bacterias muertas y toxoide reduce considerablemente la formación de abscesos después de la infección con *Corynebacterium pseudotuberculosis* y que puede ser efectiva en los programas de control combinada obviamente con la eliminación de los animales infectados (<http://www.ag.unr.edu/ahb/articles/1999/12/99-art/-week/htm-5k>).

En un trabajo realizado en 1990, comprendiendo 2 ranchos se utilizó una tintura comercial de yodo en aerosol, aplicándola en todas las heridas visibles en los animales inmediatamente después de la trasquila, el resultado fue una reducción significativa en el número de los ovinos positivos con títulos elevados de anticuerpos contra la infección por *Corynebacterium pseudotuberculosis*, en 10 de los 48 animales empleados en el grupo tratado (20.8%) y 19 de 46 animales en el grupo utilizado como control (41.3%) resultaron positivos en la prueba de ELISA en los tres meses siguientes a la trasquila. Se sugiere que el tratamiento de las heridas provocadas durante la trasquila sea a base de tintura de Yodo, dado a que se ha demostrado como efectivo en la protección contra la infección de esta bacteria en ovinos (Serikawa, 1990).

Se utilizó en un estudio a las 6 semanas de edad en borregos y cabras, una bacterina de *Corynebacterium pseudotuberculosis* conteniendo muramyl dipeptido al 10% y aceite mineral, dejando un grupo control no vacunado; las inoculaciones fueron por vía intramuscular y repetidas un mes después. Todos los animales fueron expuestos a la infección natural bajo condiciones de campo, el titulo de anticuerpos se incremento rápidamente después de la vacunación y permanecieron elevados en animales vacunados. Esto último ocurrió en 40.9% mientras que 17% de borregos no vacunados y crías respectivamente con un tiempo de infección de 478 y 483 días respectivamente y en 19% y 9.3% de borregos vacunados y cabritos con un tiempo de infección 665 y 595 días, en el sitio de inyección se presentaron abscesos y sin reacciones sistémicas. (Brogden, 1996).

En un estudio realizado en Australia en 1983 se formaron grupos de borregos que fueron dosificados con un toxoide a base de *Corynebacterium pseudotuberculosis* combinado con 5 antígenos de *Clostridium* (*Clostridium perfringens* tipo D, *Clostridium novyi* tipo B, *Clostridium tetani*, *Clostridium septicum* y *Clostridium chauvoei*).

La resistencia de los ovinos a la infección del microorganismo fue lo que se tenía que determinar a 1, 6 y 12 meses después de la vacunación, posteriormente fueron desafiados con *Corynebacterium pseudotuberculosis* vivo proveniente de exudados purulentos de abscesos de borregos. El resultado fue valorado 3 meses después de la prueba de desafío a la matanza por la inspección de lesiones en dichos borregos. La protección mostrada en las lesiones de los animales inmunizados y los borregos control fue comparada, dando una correlación positiva con la cantidad de toxoide administrado y el grado de protección obtenida (Eggleton 1990).

En un experimento de un hato comercial de 75 vacas se evaluó el ácido sulfónico dodecyl benceno a una concentración de 1.94% durante 6 meses en el bañado de tetas post-lactación, encontrándose al aislamiento bacteriológico 16 cepas de *Staphylococcus aureus*, 12 de los cuales se encontraron en los cuartos no tratados y 4 correspondieron a cuartos tratados lo cual indica una reducción en la infección por esta bacteria en un 68.1%; se aislaron 42 *Micrococcus sp.* en el grupo no tratado y 33 en el grupo tratado lo cual indica una reducción de esta bacteria en un 23.6% ; también se diagnosticó en el trabajo un total de 37 casos de *Corynebacterium sp* de los cuales a el grupo no tratado le correspondió 21 casos y para el grupo tratado 16, lo cual indica una reducción de 25.8% en la infección por *Corynebacterium sp.* (Pankey, 1984).

En un hato de 150 vacas se determinó la eficacia de la chlorhexidina al 0.35% más glicerina como emoliente. Fueron tratadas las tetas para la prevención de la infección intramamaria en las vacas, siendo la eficacia total en forma general de un 50%, mientras que en forma específica para los microorganismos como *Staphylococcus coagulans* negativos, fue de un 49%; *Corynebacterium bovis* 65.2% y contra otros patógenos productores de mastitis la eficacia fue de un 54%. En otro estudio en el cual se utilizó el gluconato de clorhexidina como antiséptico en la postlactación con una concentración de 0.55%, se redujo la incidencia de *Staphylococcus aureus* en la glándula mamaria en un 92.5% y para el caso de *Streptococcus agalactiae* en un 71.0 %. Así mismo se han hecho estudios en forma experimental utilizando el *Staphylococcus aureus* con 0.5% de gluconato de chlorhexidina conteniendo 6% de glicerina, dando resultados similares al anterior. Se han realizado estudios en los cuales se utilizaron productos iodóforos a diferentes concentraciones en el bañado de la teta postlactación. En presencia de *Streptococcus spp.*, se utilizo yodo al 0.5% lo cual redujo la incidencia en un 56.2%,mientras que para *Streptococcus agalactiae* fue reducido en 60.9% con una concentración de Iodo al 1% (Oliver, 1990).

En un estudio que involucró 6 hatos lecheros comerciales de 291 vacas por un periodo de 8 meses, las tetas fueron tratadas antes de la ordeña sumergiéndolas en una solución desinfectante de polivinil pirrolidona al 0.25% y comparándolo con el lavado tradicional de la ubre con toallas de papel en cada hato, siendo reducidas cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* y *Corynebacterium bovis* en un 48%, 60%, 47%, respectivamente.

no habiendo diferencias significativas en los 2 grupos de vacas en infecciones intramamarias. En un segundo ensayo se consideraron 9 hatos lecheros comerciales y 367 vacas lecheras por un período de 7 meses, se comparó en un baño para tetas Nisina (péptido antimicrobiano no tóxico que es utilizado como conservador) con un producto iodoforado, empleándolos antes y después de la ordeña para cada hato en concentración de 0.5 %, no hubo diferencias significativas en la incidencia de nuevas infecciones intramamarias a pesar de una infección en un rango mayor de *Staphylococcus aureus* en el grupo de vacas cuyas tetas fueron sumergidas en la Nisina. Se concluye que estos productos pueden ser muy eficientes cuando se emplean como soluciones antisépticas antes y después de la ordeña debido a que reducen la cuenta bacteriana más que cuando se restringe su uso solo después de la ordeña (Serieys, 1996).

Se ha mostrado que el diacetato de clorhexidina es efectivo contra *Staphylococcus intermedius*, bacteria aislada comúnmente a partir de perros con heridas infectadas, en esta evaluación *in vitro* la clorhexidina fue diluida en 0.05% de agua estéril, 0.9% de cloruro de sodio y solución Ringer en las cuales forma un precipitado, no se han observado diferencias significativas en las diferentes preparaciones, siendo todas efectivas contra *Staphylococcus intermedius* (Lozier, 1992).

En otro estudio sobre la resistencia a los antisépticos y antibióticos de 310 cepas de bacterias gram positivas aisladas de vacas lecheras después de la ordeña, se evaluó la sensibilidad de 4 antisépticos Cetrimida, Clorhexidina, Hexaclorofeno y Mercurio y 9 antibióticos Ampicilina, Estreptomina, Eritromicina, Cloranfenicol, Kanamicina, Tetraciclina, Gentamicina, Novobiocina y Oxacilina. Se realizó el estudio estadístico de análisis de correlación para las especies bacterianas estudiadas, *Staphylococcus Streptococcus* y *Bacillus*. La determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) las cuáles fueron estadísticamente heterogéneas hacia los antisépticos y antibióticos, reveló relación entre Clorhexidina y 5 antibióticos para los *Streptococcus* y entre hexaclorofeno y oxacilina para el *Bacillus*, el análisis de resultados a nivel de especies bacterianas consideró una pérdida de sensibilidad de 4 veces de la CMI de las bacterias trabajadas lo cual revela la importancia de las cepas que son resistentes a muchos antibióticos especialmente los *Enterococcus* y la especie de *Staphylococcus epidermidis* siendo estas cepas posibles reservorios de plásmidos de resistencia a antibióticos y antisépticos ( Maris p Martin H, 1995).

En un estudio realizado con la bacteria *Corynebacterium sepedomicum*, el agente casual de la enfermedad denominada "Anillo Podrido" en las papas fue tratado con 28 desinfectantes y calor, se evaluó bajo ciertas condiciones como suspensión en solución acuosa, con o sin adición de materia orgánica y secado de la bacteria sobre madera. Los desinfectantes probados incluyeron 7 con hipoclorito, 5 con cuaternarios de amonio, 4 con fenoles, 3 con isodine, 6 micelánicos que incluían cv-8-quinolinato, formaldehído, ácido mercurico, etanol 70%, peróxido de hidrógeno y sulfato de cobre así como también se evaluó la sensibilidad al calor del *Corynebacterium sepedomicum* contaminando hisopos y

sumergiéndolos en agua a temperatura de 49, 66 y 82° C sobre madera en estado húmedo y seco. El microorganismo no sobrevivió a la mayoría de los tratamientos teniendo mayor eficacia en 10 minutos de exposición que en 5 minutos, sin embargo en el hipoclorito y el yodo su eficacia se vio reducida en presencia de materia orgánica. La susceptibilidad de la bacteria a los desinfectantes cuando se utilizó un cultivo desecado y en suspensión el *Corynebacterium sepedonicum*, fue que el microorganismo es eliminado en forma efectiva de superficies y equipo contaminado por la mayor parte de desinfectantes, cuando la bacteria tiene un tiempo mínimo de exposición de 10 minutos, mientras que una temperatura de 82° C por 5 minutos es efectiva para inactivar la bacteria en forma total (Secor y col, 1988).

El desarrollo de un método de prueba estándar en suspensión para desinfectantes y antisépticos adoptado en Europa es descrito para evaluar diferentes agentes desinfectantes y otros productos, usados comúnmente en Inglaterra, bajo condiciones propuestas para el desarrollo de estas pruebas, indican que la mayoría de productos diluidos en agua en forma estándar muestran un efecto satisfactorio de la actividad produciendo un conteo viable de 4.5 a 5 log en un lapso de 5 minutos contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Proteus mirabilis* y *Candida albicans*. Mientras que en la ausencia y presencia de 1% de albúmina todos los productos cuando son diluidos en agua destilada tienen una reducción en la eficacia de 5 log en 60 minutos. Los desinfectantes fueron diluidos en agua y probados a 3 concentraciones y 3 veces en contacto ya sea 5 o 60 minutos para pasar la prueba bactericida. el producto produjo una mínima reducción de conteo viable de bacterias que fue de  $1 - 3 \times 10^7$  a  $3 \times 10^2$  en 60 minutos (Bloomfield, 1991).

Se ha mostrado que la mosca común (*Musca domestica*) es un portador de *Corynebacterium pseudotuberculosis* en explotaciones lecheras israelíes. En junio de 1993 se aisló esta bacteria en 40 moscas comunes que habían estado en contacto con una lesión de una vaca y en 28 moscas de laboratorio alimentadas con leche contaminada de una vaca enferma de mastitis. La bacteria estaba presente en la superficie corporal de 10 moscas de un total de 160 a los 10 minutos de haberlas empapado por completo en un caldo bacteriano. Otras 10 moscas de un total de 40 albergaban bacterias en la superficie corporal a los 5 minutos de haberse alimentado con leche contaminada. Así mismo y tras alimentar con terrones de azúcar contaminados a 110 moscas, se comprobó la presencia externa de la bacteria en 70 de ellas a los 5 minutos, y en otras 20 a los 10 minutos. De 110 moscas que se alimentaron con leche contaminada, 80 excretaban la bacteria por la saliva entre 5 minutos y 3 horas después. Igualmente, entre 1 hora y 4 horas después de ingerir leche contaminada, se aisló la bacteria en el intestino de 40 moscas y las heces de 30 moscas de un total de 60. A la vista de tales resultados y teniendo en cuenta la especial predilección de la mosca común por los residuos de leche presentes en los pezones de la vaca, los autores dedujeron que esta especie desempeña un importante papel como portador y diseminador de *Corynebacterium pseudotuberculosis* en los rebaños lecheros israelíes. La mosca picadora de los establos (*Stomoxys calcitrans*) en cambio, no parece intervenir como portador ni en la diseminación

de la enfermedad, después de haberla alimentado con caldo bacteriano y sangre en 5, 10, 15, 30 minutos, 2 horas y 24 horas de alimentarla a través de una membrana con una mezcla de caldo bacteriano y sangre ( Braverman y col. 1999).

Se realizó la prueba de ELISA en Australia para la detección de anticuerpos contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* en borregos y cabras y fue modificada para probar la sensibilidad y especificidad usando ELISA A y B comparando con 2 ELISA (C y D) las cuales detectaron anticuerpos contra los antígenos de la pared celular o la toxina, ELISA B tuvo una especificidad de 98 +/- 1%, para cabras y 99 +/- 1%, para borregos, la sensibilidad fue de 94 +/- 3% para cabras y 79 +/- 5% para borregos. Estos resultados fueron satisfactorios y al ser conocidos en otros países originaron que la prueba de ELISA B será ahora la prueba de uso en programas de control y erradicación de LC en Holanda, así como también será empleada en estudios experimentales de LC en Escocia (Dercksen, 2000).

Un programa de control para el virus de la artritis encefalitis caprina (CAEV) y *Corynebacterium pseudotuberculosis* en el que la infección estaba establecida en Noruega en un rebaño de cabras, se utilizó la prueba de ELISA en aproximadamente 100 cabras lactantes, la seroprevalencia de anticuerpos contra CAEV y *Corynebacterium pseudotuberculosis* fue 97% y 94% respectivamente (Holstand.,1998).

En un estudio realizado en Holanda en 1996 utilizando la prueba de ELISA se determinó que tiene una especificidad y sensibilidad cercana al 100% para el diagnóstico de la linfadenitis caseosa, esto fue demostrado en 53 rebaños de cabras de un año con una población de 13000 animales y en base a estos resultados fueron certificadas como libres de la enfermedad (Dercksen, 1996).

En un estudio realizado de noviembre de 1986 a febrero de 1989 se examinaron 2661 borregos durante el sacrificio para diagnosticar la linfadenitis caseosa, palpando los linfonodos torácicos y abdominales a la canal, asociándolos a la palpación clínica de otros linfonodos, o a una ó más lesiones de LC, en 691 ovejas se encontró una prevalencia de 26%, de todas las lesiones que se encontraron 252 (9.5%) y de las lesiones que encontraron en los cadáveres 544 (20.4%) la prevalencia de las granjas individuales vario de 0 hasta 56.3%. Se recolectó sangre de 2474 borregos para pruebas serológicas, en las cuales 1248 de ellos mostraron positividad correspondiendo al 50.4%, la prevalencia de los animales (+) vario de 64.4% y la especificidad fue de 54.6% existiendo una fuerte correlación de 0.663 entre la prevalencia de lesiones y pruebas serológicas (Middleton, 1991).

En un estudio se hicieron 3 grupos de 150 borregos cada uno, de los cuales 50 en cada grupo fueron artificialmente infectados con *Corynebacterium pseudotuberculosis* y los 100 restantes en cada grupo no se infectaron, fueron separados durante 40 meses y trasladados 5

veces para promover la difusión de linfadenitis caseosa. Un lote de 50 borregos infectados y dos lotes de 100 borregos no infectados fueron vacunados contra LC. El rango de difusión de linfadenitis caseosa fue registrado. Los borregos vacunados contra la LC y expuestos a una exposición natural tuvieron una reducción de la enfermedad un 74%, contra los borregos no vacunados. Los ovinos vacunados contra la LC y en contacto solamente con borregos vacunados expuestos a la infección tuvieron un 97% más bajo de rango de infección. Los borregos vacunados tenían una infección de 76% con un 77% de transmisión ocurrido en la cuarta a quinta trasquila, la enfermedad se difunde de descargas de abscesos pulmonares a borregos que presentan heridas. Los ovinos si vacunados infectados con la bacteria tuvieron 96% menos lesiones pulmonares que aquellos no vacunados infectados y por lo tanto fueron menos capaces de diseminar la infección a otros ovinos (Paton, 1995).

En un periodo de prueba por 12 meses en un hato de 120 vacas holstein se determinó la eficacia de un antiséptico, el cual contiene una combinación fenólica para la prevención de la infección intramamaria de las vacas durante la lactación. La antisepsia de la ubre después de la ordeña se realizó con el antiséptico a prueba, usando la mitad de la glándula mamaria para el experimento y la otra mitad como control negativo. El porcentaje de reducción de patógenos como *Streptococcus sp*, *Staphylococcus coagulasa negativos* y *Corynebacterium bovis* en la glándula mamaria después de haber sido bañada post ordeño fue reducido en un 45% en relación con el control.

En el análisis estadístico no hubo diferencia de la incidencia de mastitis clínica entre los grupos tratados. Se observó que no hay irritación después del bañado de tetas con el antiséptico experimental; se sugiere a este como el más efectivo después de la ordeña (Oliver, 1999).

El propósito de un estudio en Australia fue intentar erradicar la Linfadenitis Caseosa en borregos con el auxilio de un monitoreo serológico, con el desarrollo de una nueva técnica de ELISA y el sacrificio de reactores positivos a la enfermedad, las ovejas preñadas y seropositivas quedaron en cuarentena y los corderos cambiados ó apartados, sus crías fueron alimentadas artificialmente y se les permitió quedarse en el hato bajo este régimen implementando además un número de medidas higiénicas, la linfadenitis caseosa fue erradicada de 2 grandes rebaños. La erradicación de la linfadenitis caseosa en cualquier rebaño ha sido considerada imposible principalmente por la viabilidad del microorganismo causante de la infección local, el microorganismo puede sobrevivir en el suelo bajo condiciones favorables por semanas o meses, también en materia orgánica y en áreas sombreadas aunque es sensible a la luz ultravioleta y a la luz directa. (Schreuder, 1994).

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la acción de diferentes antisépticos y desinfectantes *in vitro* en cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* aisladas a partir de cabras con Linfadenitis Caseosa.

### OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Aislamiento e identificación de *Corynebacterium pseudotuberculosis* a partir de muestras de cabras con Linfadenitis Caseosa.
- 2) Realización de la técnica de difusión en disco para determinar cuál o cuáles de las soluciones utilizadas contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* resultan más eficaces contra esta bacteria.

## MATERIAL

- A) Biológico
  - Muestras de abscesos obtenidas de cabras con Linfadenitis Caseosa
  - Sangre
  - Suero (de Equino).
  
- B) Medios de cultivo
  - Base para Agar Sangre
  - Medios para caracterización bioquímica.
  
- C) Vidriería
  - Cajas de petri
  - Porta objetos
  - Matraz Erlenmeyer
  - Pipetas
  - Tubos de ensaye con tapón de rosca.
  
- D) Antisépticos y Desinfectantes
  - Cloro 6%
  - Fenol 2 y 5%
  - Yodo 2%
  - Isodine
  - Benzal 10% y 1:100
  - Formol 2%
  - Hidróxido de sodio al 2%.
  - Ambietrol (Fenil fenol, Difetil clorofenol, Terciario amilfenol).
  - Violeta de genciana
  
- E) Material Térmico
  - Estufa bacteriológica
  - Mecheros
  - Refrigerador.
  
- F) Material de acción mecánica
  - Asa de inoculación
  - Pinzas de disección.
  
- G) Juego para Tinción de Gram
  - Cristal violeta
  - Lugol
  - Acetona
  - Safranina.

H) Otros

- Discos de papel filtro estériles
- Calibrador Vernier
- Bolsas de polietileno
- Gradillas, etiquetas adhesivas.

## METODO

### A) Muestras

Recolección de linfonodos abscedados de caprinos a sacrifició en el rastro de Tlanepantla, Estado de México, procedentes de Estados Unidos. Estas muestras fueron depositadas en guantes de polítileno estériles y se trasladaron al Laboratorio de Microbiología de la FES- Cuautitlán Campo 4 para ser procesadas.

### B) Medios de Cultivo

La preparación de los medios de cultivo para aislamiento primario se utilizó base para agar sangre el cual se preparó y se esterilizó a 121°C, 15 minutos y 15 libras y después se dejó enfriar a 45°C aproximadamente y a esta temperatura se le agregó la sangre desfibrinada en concentración del 5% sirviendo en cajas de petri y dejandolas a prueba de esterilidad a 37°C durante 24 hrs. para su uso, para la identificación bioquímica fue realizada de acuerdo a las especificaciones marcadas en cada uno de ellos. El suero estéril fue adicionado a los siguientes medios MR (rojo de metilo), Urea, VP (voges proskauer) y Nitratos, también a los azúcares: Glucosa, Lactosa, Sucrosa, Manitol, Almidon, Xilosa, Salicin, Trealosa y Maltosa después de haber sido esterilizados

### C) Aislamiento e Identificación bioquímica

A partir de las muestras clínicas se realizó el aislamiento de la bacteria en agar sangre y la identificación bioquímica se realizó de acuerdo a García, (1980).

### D) Cultivos bacterianos

Las cepas aisladas e identificadas como *Corynebacterium pseudotuberculosis* fueron inoculadas en tubos que contenían 2.5 ml de caldo de infusión cerebro y corazón (BHI), al cual se le adicionó 0.3 ml. de suero equino estéril y se incubó a 37°C durante 48 hr. posteriormente la turbidez fue ajustada con caldo estéril hasta obtener una densidad comparable con un estándar de sulfato de bario. Este estándar se preparó mezclando 0.5 ml de cloruro de bario al 1%, a 99.5 partes de ácido sulfúrico al 1%(v/v), que es la mitad de la densidad del estándar No.1 del Nefelómetro de Macfarland. La turbidez ajustada presentó similitud con este estándar el cual corresponde aproximadamente 100,000,000 de microorganismos por ml. La suspensión ajustada de inculo no deberá permanecer más de 15 - 20 minutos antes de sembrarla en la caja.

### E) Técnica de Difusión en disco.

1. Se estandarizó el cultivo de *Corynebacterium pseudotuberculosis* con el tuvo 1 al .5 del Nefelómetro de Maccfarland.

2. Se aplicó 1 ml de cultivo estandarizado de *Corynebacterium pseudotuberculosis* sobre la superficie de agar sangre Mueller-Hinton estendiendolo homogéneamente. impregnaron cada uno de los discos con desinfectantes y/o antisépticos a diferentes concentraciones según el caso.
3. Se depositaron cada uno de los discos con pinzas estériles sobre la superficie del agar a una distancia entre cada uno de 1 cm.
4. Posteriormente se incubaron a 37°C por 48 hrs.
5. Después de la incubación se midieron los halos de inhibición con un vernier para cada uno de los desinfectantes y antisépticos, expresándose el resultado en mm. (Elad, 1991; Bradshaw, 1992).

## RESULTADOS

De acuerdo a los resultados en las pruebas de sensibilidad en disco a diferentes desinfectantes y antisépticos sobre cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* se midieron los halos con el calibrador Vernier y fueron expresados en mm, esta determinación se realizó con las cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis*.(ver tabla 1).

Se pudo observar que dentro de los desinfectantes que presentaron un alto porcentaje de eficacia sobre *Corynebacterium pseudotuberculosis* fueron o-Fenil fenol o- Bencil Clorofenol,p-Terciario Amilfenol (Ambietrol) Cloro al 6%y Formol al 2% siendo 100%, 97.1% y 91.42% respectivamente mientras, que los que presentaron menor eficacia fueron el Fenol al 5% con 42.85% NaOH al 2% con 28.5%, Fenol al 2% con 25.7% (ver gráfica 1).

En relación a los promedios que se obtuvieron para desinfectantes con mayor halo de inhibición el Ambietrol presentó 24.37 mm, Cloro al 6% con 19.60 mm, Formol al 2% con 18.09 mm en orden de importancia mientras que el Fenol al 5% con 4.6 mm, NaOH al 2% presentó 2.94 mm, Fenol al 2% con 2.77 mm, que en comparación a los primeros fue una actividad baja. En tanto a los antisépticos tales como Violeta de Genciana presentó un halo de inhibición 22.29 mm, Benzal 1:100 con 22.97 mm, Benzal 10% con 18.03 mm observándose en estos una elevada eficacia mientras que el Isodine con 13.85 mm y el Yodo 2% con 11.26 mm se consideraron de menor eficacia con respecto a los halos inicialmente mencionados (ver gráfica 2).

Se gráfico la frecuencia contra las cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* obteniéndose determinados halos de inhibición con cada uno de los antisépticos empleados, encontrándose que en el caso del Yodo al 2% el mayor halo de inhibición fue de 15 mm y solamente se observaron en un cultivo de *Corynebacterium pseudotuberculosis*, sin embargo 10 cultivos bacterianos con el mismo antiséptico presentó un halo de inhibición de 10 mm (ver gráfica 3).

Para el Isodine se observo el halo de inhibición mayor que fue de 21 mm encontrándose únicamente en un cultivo bacteriano y se presentaron halos de inhibición de 13 mm en 7 cultivos,mientras que de 15 mm en otras 7 cepas (ver gráfica 4).

En el Benzal al 10% el halo de inhibición de 18 mm se encontró con una frecuencia de 11 veces y solo una cepa presentó un halo máximo de 28 mm (ver gráfica 5). En el Benzal de una concentración de 1:100 se obtuvieron mayores halos de inhibición con respecto a los demás antisépticos encontrándose estos en 3 cultivos bacterianos y se obtuvo una frecuencia de 5 con halos de 20 mm (ver gráfica 6).

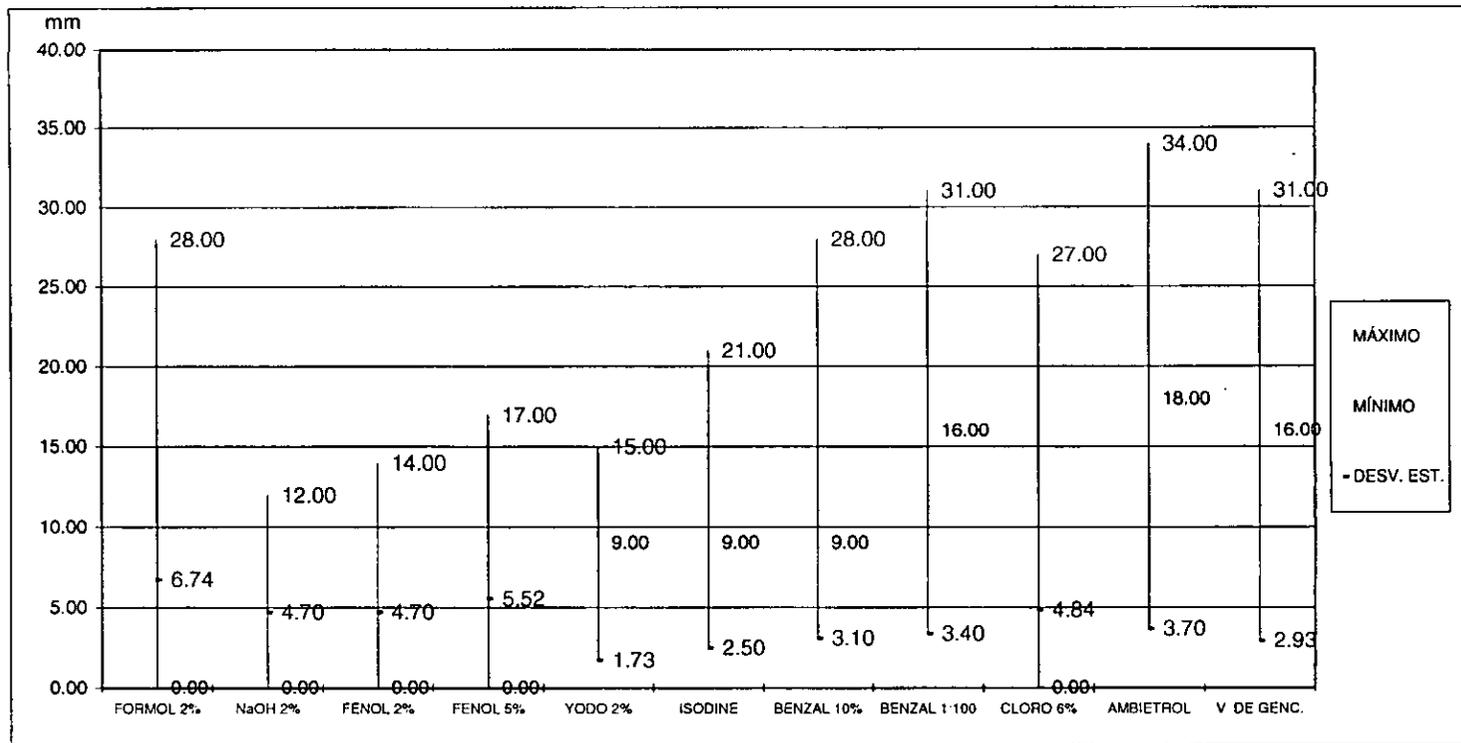
Con respecto a Violeta de Genciana se encontraron 9 repeticiones con un halo de inhibición de 20 mm y 6 con una inhibición de 24 mm. en un solo cultivo bacteriano se encontró una inhibición de 31 mm (ver gráfica 7)

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD EN DISCO A DIFERENTES DESINFECTANTES ANTISÉPTICOS  
EN CEPAS DE *Corynebacterium pseudotuberculosis*

CEPA	FORMOL 2%	NaOH 2%	FENOL 2%	FENOL 5%	YODO 2%	ISODINE	BENZAL 10%	BENZAL 1:100	CLORO 6%	AMBIETR OL	V. DE GENC.
C1	15	0	0	0	9	15	15	23	13	23	20
C2	25	0	12	12	14	16	21	31	22	25	31
C3	0	0	0	11	9	15	19	19	18	21	20
C4	28	12	14	10	11	13	16	20	22	22	24
C5	18	0	0	0	10	18	18	25	17	31	24
C6	0	0	13	13	14	21	19	26	0	21	22
C7	18	0	0	0	15	15	17	20	14	22	21
C8	28	0	0	0	12	13	21	27	19	23	24
C9	0	0	0	11	12	14	28	30	21	24	26
C10	17	0	14	10	12	16	9	28	20	26	28
C11	15	0	8	12	10	15	11	22	20	19	25
C12	23	0	0	0	9	11	18	18	21	19	21
C13	19	10	9	0	10	12	18	20	17	25	21
C14	20	0	9	0	11	9	17	16	13	19	16
C15	20	0	10	9	12	13	20	26	20	30	21
C16	15	0	0	0	10	15	20	22	20	26	20
C17	25	0	0	17	11	14	21	22	22	22	22
C18	21	9	0	9	11	13	22	27	27	26	20
C19	22	9	0	12	9	15	19	20	22	25	18
C20	22	0	0	0	10	16	18	23	23	24	24
C21	18	0	0	0	11	12	18	20	26	21	20
C22	20	9	0	0	11	12	18	24	24	24	20
C23	22	0	0	0	10	13	19	24	22	28	26
C24	26	10	0	9	9	11	17	21	22	24	21
C25	15	0	0	0	10	13	16	19	17	20	20
C26	26	12	0	0	10	12	18	22	20	22	19
C27	15	12	0	9	14	12	18	23	20	28	25
C28	16	9	0	0	11	14	20	23	18	28	20
C29	18	0	0	9	13	13	20	25	21	18	24
C30	16	0	0	0	10	15	18	25	18	34	25
C31	17	0	8	0	14	10	14	21	18	24	20
C32	21	0	0	0	13	18	16	27	27	25	23
C33	21	0	0	0	14	11	18	19	27	26	22
C34	18	0	0	0	10	18	18	25	17	31	24
C35	13	11	0	9	13	11	16	21	18	27	23

	FORMOL 2%	NaOH 2%	FENOL 2%	FENOL 5%	YODO 2%	ISODINE	BENZAL 10%	BENZAL 1:100	CLORO 6%	AMBIETR OL	V. DE GENC.
PROMEDIO	18.09	2.94	2.77	4.63	11.26	13.83	18.03	22.97	19.60	24.37	22.29
MAXIMO	28.00	12.00	14.00	17.00	15.00	21.00	28.00	31.00	27.00	34.00	31.00
MINIMO	0.00	0.00	0.00	0.00	9.00	9.00	9.00	16.00	0.00	18.00	16.00
DESV. EST.	6.74	4.70	4.70	5.52	1.73	2.50	3.10	3.40	4.84	3.70	2.93

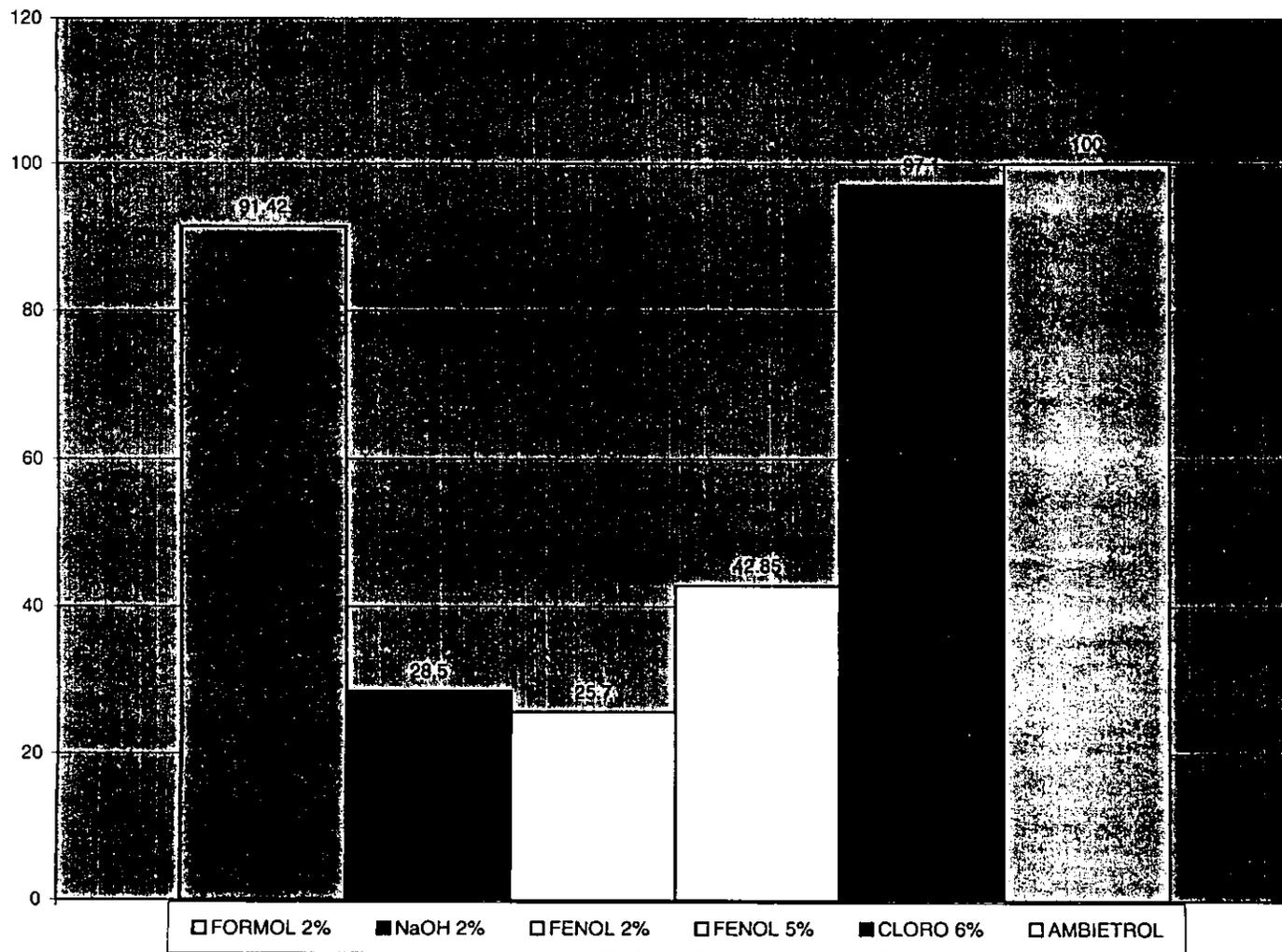
## DESVIACIÓN ESTANDAR



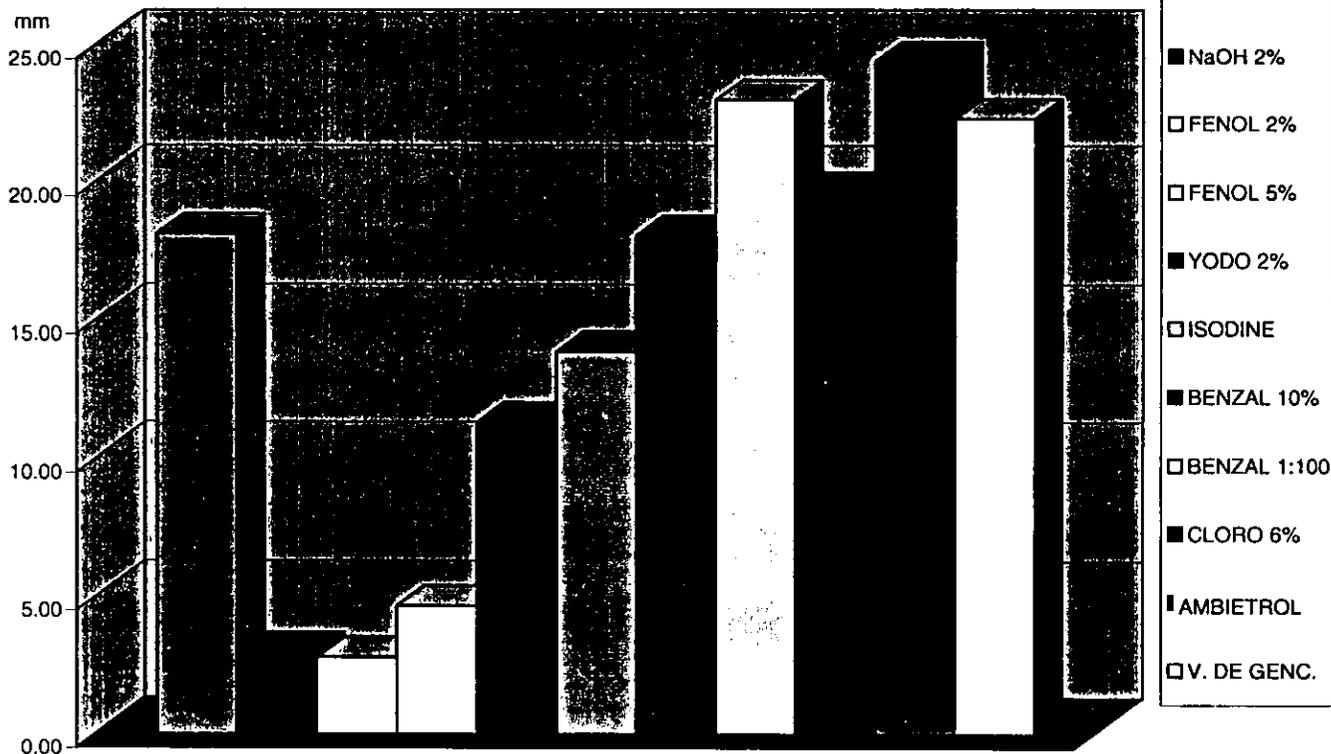
**Resultados obtenidos en la prueba de sensibilidad en disco de cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* en diferentes desinfectantes y antisépticos.**

	FORMOL 2%	NaOH 2%	FENOL 2%	FENOL 5%	YODO 2%	ISODINE	BENZAL 10%	BENZAL 1:100	CLORO 6%	AMBIETROL	V DE GENC.
<b>PROMEDIO</b>	18.09	2.94	2.77	4.63	11.26	13.83	18.03	22.97	19.60	24.37	22.29
<b>MÁXIMO</b>	28.00	12.00	14.00	17.00	15.00	21.00	28.00	31.00	27.00	34.00	31.00
<b>MÍNIMO</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	9.00	9.00	9.00	18.00	0.00	18.00	16.00
<b>DESV. EST.</b>	6.74	4.70	4.70	5.52	1.73	2.50	3.10	3.40	4.84	3.70	2.93

GRAFICA 1. Porcentaje de cepas de *C. pseudotuberculosis* susceptibles a los diferentes desinfectantes utilizados en este estudio



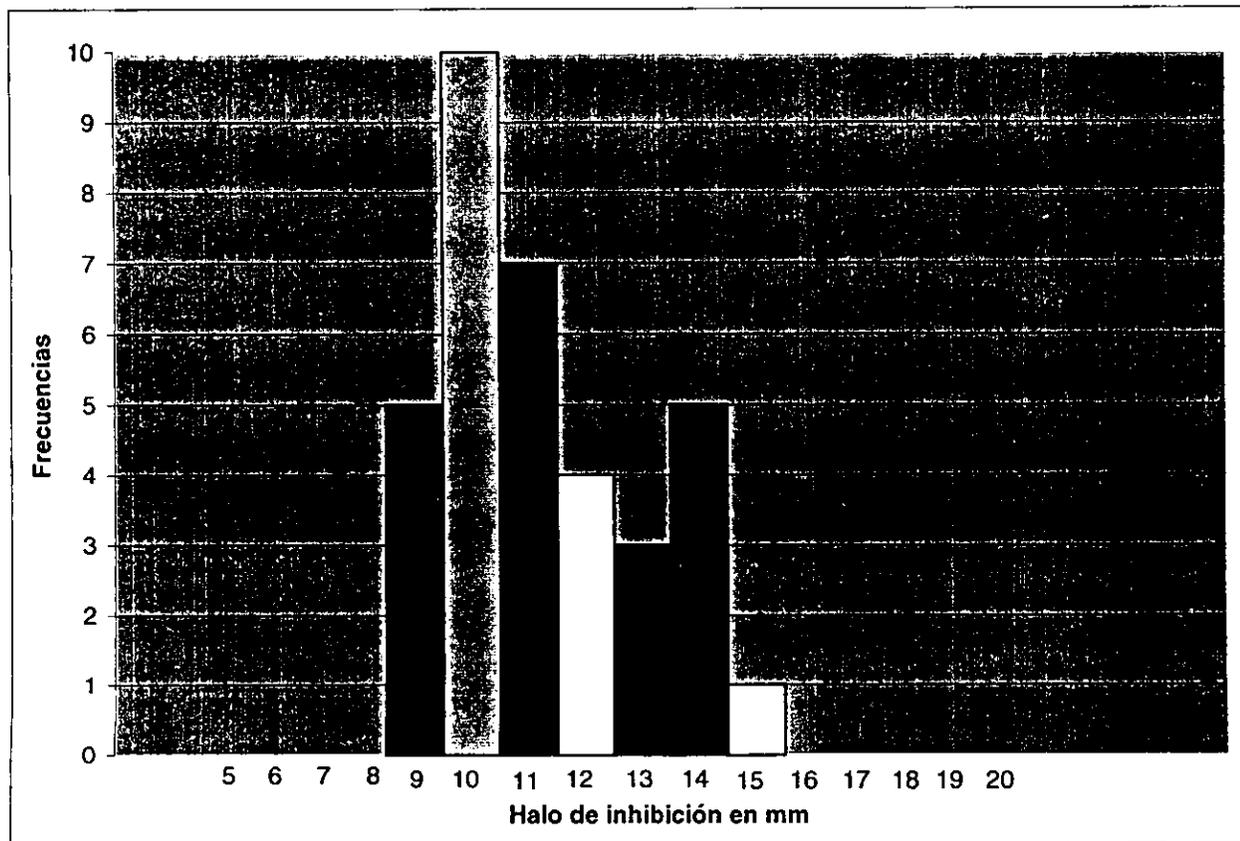
**GRAFICA 2. PROMEDIOS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD EN DISCO DE *C. pseudotuberculosis* A DIFERENTES DESINFECTANTES Y ANTISÉPTICOS**



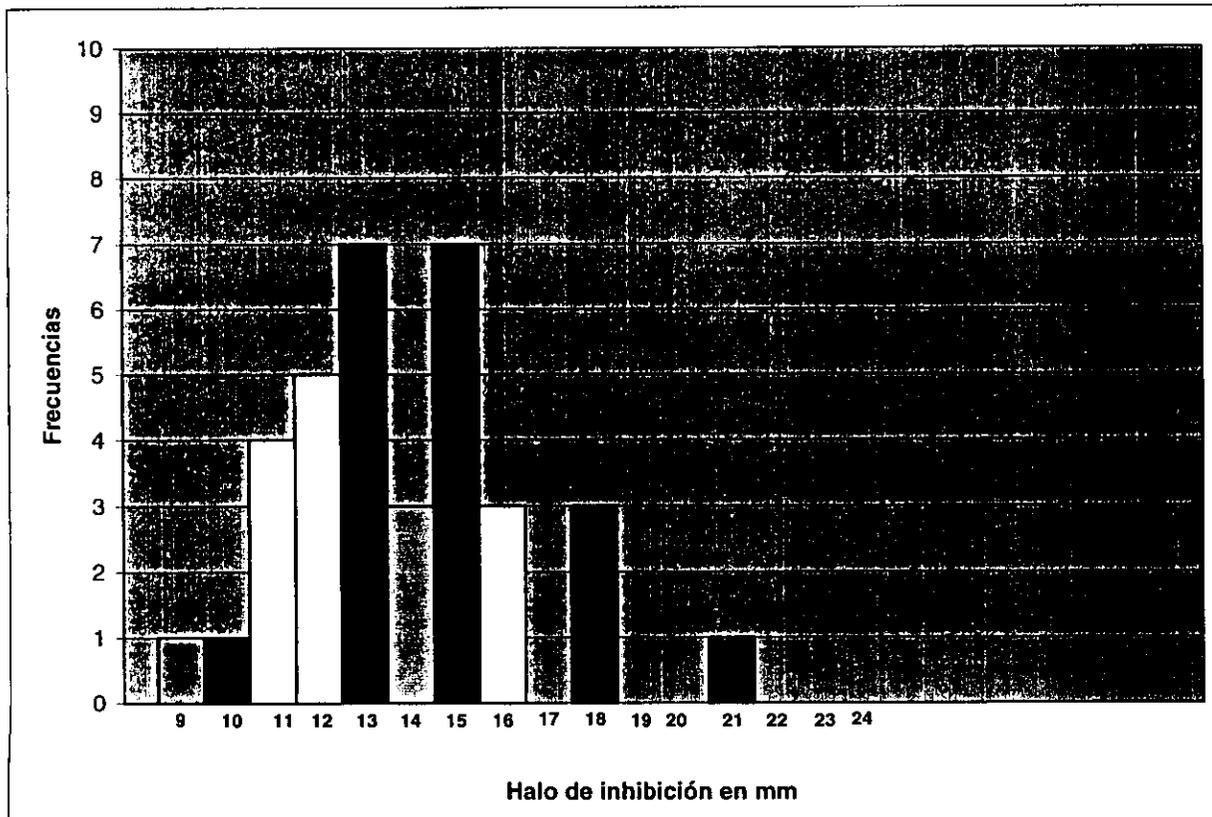
PROMEDIO DESINFECTANTES

	FORMOL 2%	NaOH 2%	FENOL 2%	FENOL 5%	YODO 2%	ISODINE	BENZAL 10%	BENZAL 1:100	CLORO 6%	AMBIETROL	V. DE GENC.
PROMEDIO	18.09	2.94	2.77	4.63	11.26	13.83	18.03	22.97	19.60	24.37	22.29
MÁXIMO	28	12	14	17	15	21	28	31	27	34	31
MÍNIMO	0	0	0	0	9	9	9	16	0	18	16
DES. EST.	6.74	4.70	4.86	5.52	1.73	2.50	3.10	3.40	4.84	3.70	2.93

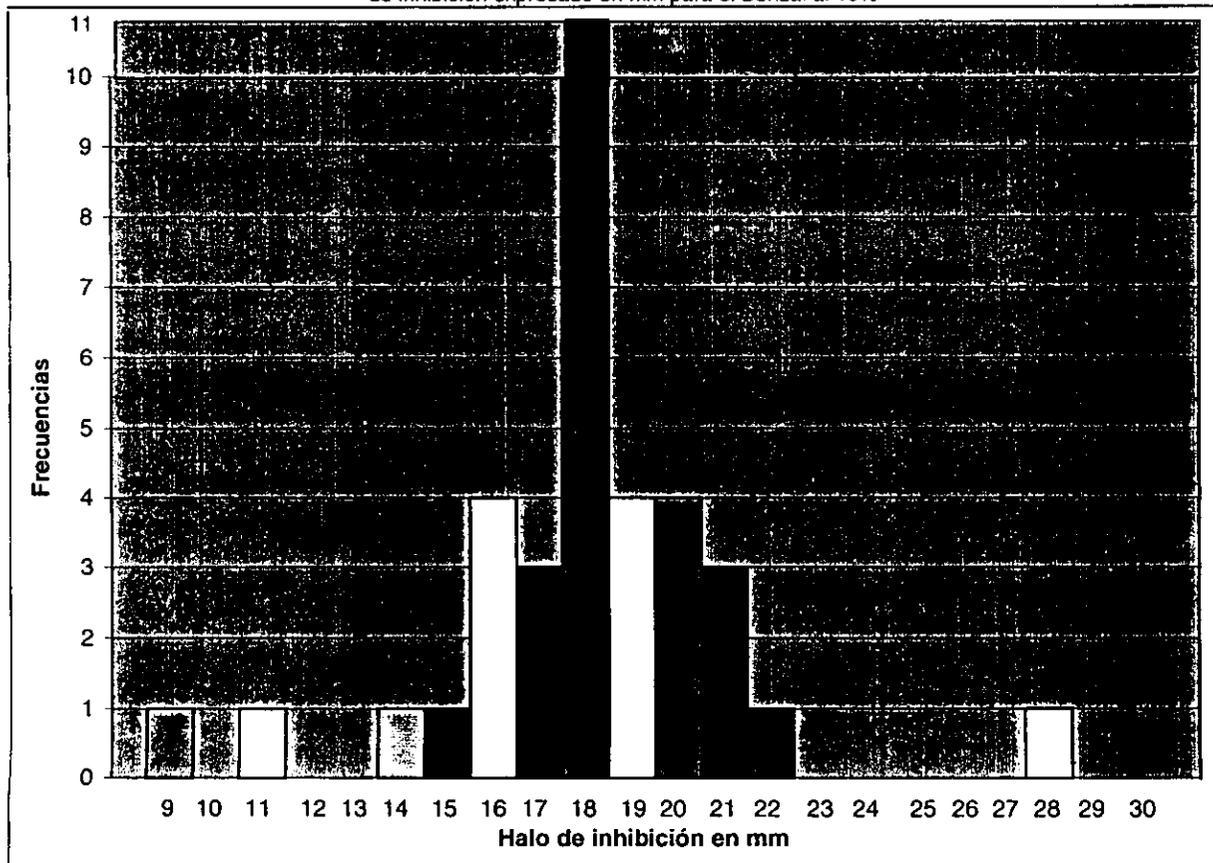
Gráfica No. 3 Frecuencia de las cepas de *C. pseudotuberculosis* en relación al halo de inhibición expresado en mm para el Yodo 2%



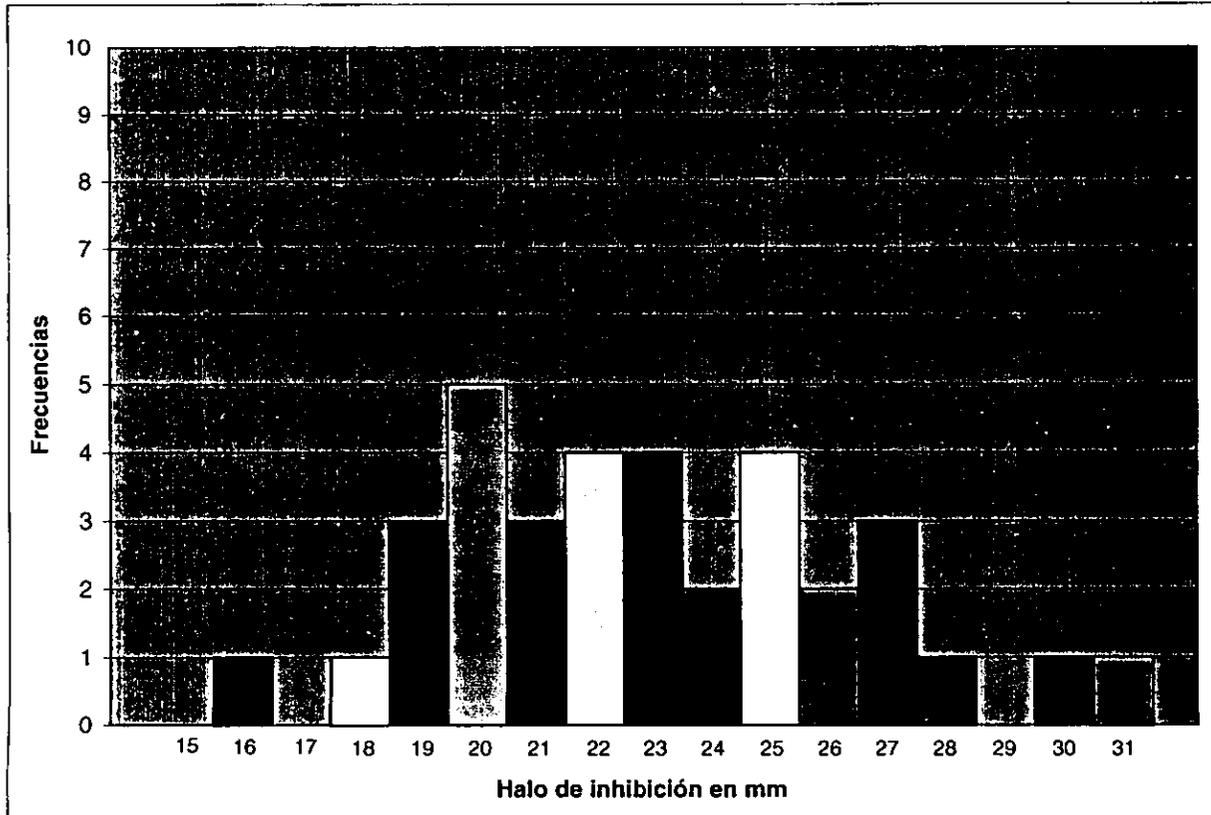
Gráfica No. 4 Frecuencia de las cepas de *C. pseudotuberculosis* en relación al halo de inhibición expresado en mm para Isodine



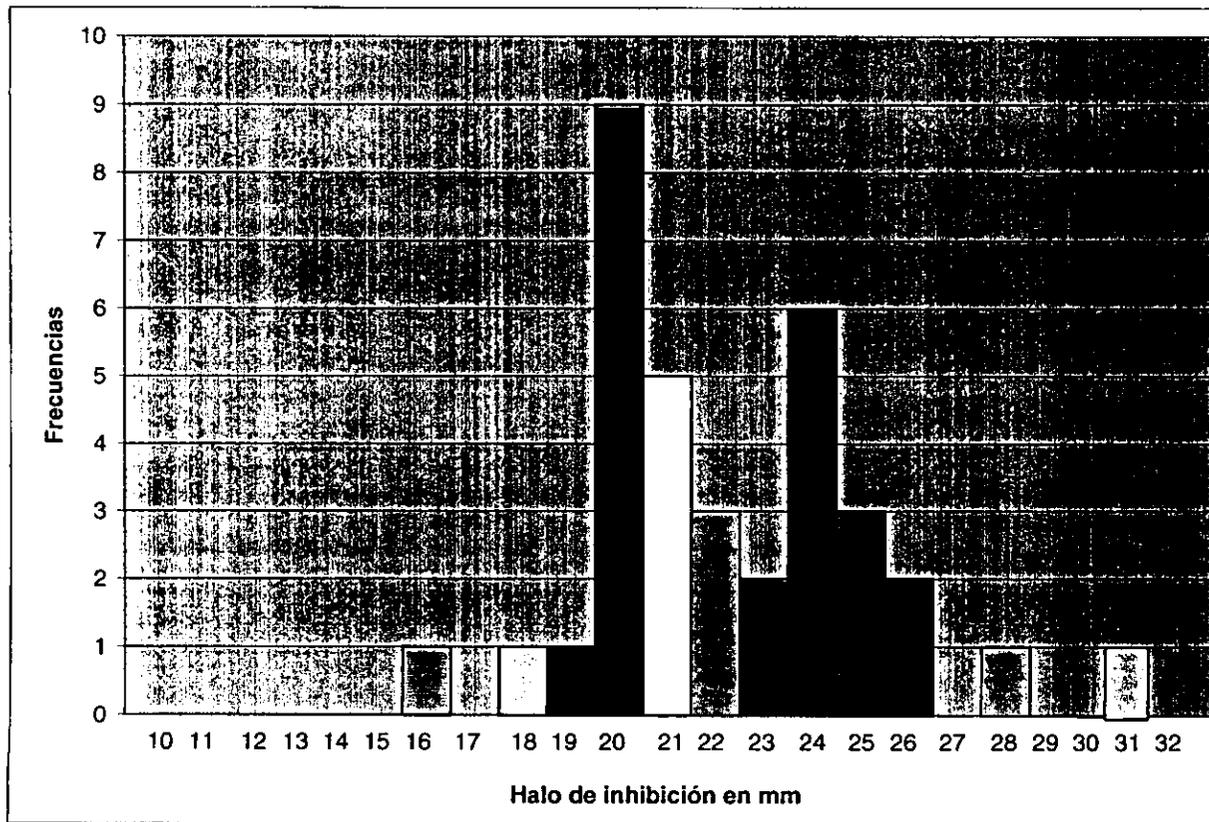
Gráfica No. 5 Frecuencia de las cepas de *C. pseudotuberculosis* en relación al halo de inhibición expresado en mm para el Benzal al 10%



Gráfica No. 6 Frecuencia de las cepas de *C. pseudotuberculosis* en relación al halo de inhibición expresado en mm para el Benzal 1:100



Gráfica No. 7 Frecuencia de las cepas de *C. pseudotuberculosis* en relación al halo de inhibición expresado en mm para el Violeta Genciana



## DISCUSION

El desinfectante que presentó un alto porcentaje de eficacia sobre *Corynebacterium pseudotuberculosis* fue una presentación comercial de Ambietrol, el cual incluye una mezcla de 3 fenoles sintéticos (Fenil-fenol o-Bencil Clorofenol p-Terciario Amilfenol) que logra una sinergia en su acción lo que hace que sea más efectivo contra la bacteria, en tanto que el fenol al 2% y 5% tuvieron menor eficacia sobre el *Corynebacterium pseudotuberculosis* posiblemente debido a que el Fenol no presentó una difusión adecuada en el medio de cultivo, lo cual interfirió su actividad sobre la bacteria en relación con los fenoles sintéticos presentes en el Ambietrol. Con respecto a este ultimo desinfectante el resultado de efectividad obtenido en este trabajo fue del 100% mientras que en otro realizado previamente (Del Río, 2000) fue del 80%, esta diferencia puede ser debida a las diferentes técnicas de evaluación de la solución desinfectante, en el trabajo anterior se utilizó la prueba de microensayo considerando la superficie de desinfectar y la presencia de exudado purulento lo cual pudo influir de forma importante en los resultados obtenidos respectivamente.

El Cloro al 6% tuvo una eficacia del 97.1% sobre *Corynebacterium pseudotuberculosis* in vitro, sin embargo comparando este resultado con otros trabajos (Del Río, 2000; Villegas y Benitez, 1999 ) utilizando el Cloro a la misma concentración tuvo una efectividad del 80% evaluado en una superficie porosa (madera) y en una lisa (metal) con y sin presencia de exudado purulento, con esto podemos observar que a nivel de campo puede llegar a disminuir la efectividad del desinfectante si consideramos otros factores, como las características de la superficie a desinfectar y la presencia de materia orgánica particularmente en este caso con exudado purulento.

Con respecto al Formol la concentración al 2% se utilizó también en los trabajos mencionados previamente teniendo una elevada eficacia tanto en la prueba de Difusión en Disco como en la de Microensayo teniendo una diferencia poco significativa en el resultado de esta última.

Para el NaOH al 2% la baja eficacia de este desinfectante probablemente se debió a que se utilizó a temperatura ambiente, sin embargo cuando se utiliza a altas temperaturas su eficacia es mayor. Esto pudiera ser debido a que cualquier substancia como soluto si se encuentra en solución acuosa, al incrementar la temperatura el intercambio iónico se aumenta, facilitando la entrada y actividad específica.

Los antisépticos que fueron empleados para su evaluación en general, presentaron buenos resultados. Sin embargo, el Violeta de Genciana fue el que presento mayores halos de inhibición seguida por el Benzal 1:100, Benzal al 10%, Isodine y Yodo al 2% en este orden; en trabajos previamente realizados se utilizaron estas mismas soluciones antisépticas y coincide con los resultados in vitro obtenidos por Villegas y Benitez (1999) utilizando la técnica de Difusión en Disco en cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* obtenidas de ovinos con Linfadenitis Caseosa. En los resultados obtenidos por Del Río (2000) se observa que el Yodo tiene mejor actividad con respecto al Benzal 1:100 en presencia de materia orgánica, estos resultados difieren un poco debido a que el Yodo es un compuesto halogenado que no presenta ninguna modificación en su espectro de acción en presencia de materia orgánica, por otro lado se observo que el Benzal es efectivo sobre la bacteria en cultivo puro, pero tiene una reducción en su efecto en presencia de exudado purulento.

## CONCLUSIONES

1) En forma general los desinfectantes que presentaron mejor actividad (en porcentaje) sobre cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* fueron: Fenil Fenol o-Bencil Clorofenol p-Terciario Amilfenol (Ambietrol) con 100%, Cloro al 6% con 97.1% y Formol al 2% con 91.42%, mientras que el Fenol al 5% con 42.85 %, NaOH al 2% con 28.5 y Fenol al 2 % con 25.7% presentaron un porcentaje menor.

2) En cuanto a los promedios de los desinfectantes con mayor halo de inhibición sobre las cepas en orden de importancia fueron: o-Fenil Fenol o-Bencil Clorofenol p-Terciario Amilfenol (Ambietrol) con 24.37 mm, Cloro al 6% con 19.60 mm y Formol al 2% con 18.09 mm; en tanto que con menor halo de inhibición se encontraron el Fenol al 5% con 4.6 mm, NaOH al 2% con 2.94 mm y Fenol al 2% 2.27 mm. En el caso de los antisépticos como Benzal al 1:100 con 22.97 mm, Violeta de Genciana con 22.29 mm, y Benzal al 10% con 18.03 mm presentaron una elevada eficacia en relación con la zona de inhibición mientras que el Isodine con 13.85 mm y el Yodo al 2% con 11.26 mm, presentaron una baja eficacia.

3) De acuerdo a lo mencionado anteriormente las soluciones desinfectantes más eficaces contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* evaluadas mediante la prueba de Difusión en Disco y que se recomiendan para su uso son: la presentación comercial de Ambietrol, Cloro al 6% y Formol al 2%

4) Los antisépticos que resultaron más efectivos contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* empleando la misma prueba fueron: Violeta de Genciana, Benzal 1:100 y Benzal al 10%, por lo cual sería adecuado su empleo en heridas que se presentaran en borregos y cabras.

## BIBLIOGRAFIA

A.Perea y col. (1999). rofesion de los pequeños rumiantes Internet

<http://www.colvet.es/infovet/oct99/sciencev/articulo.htm>.

Aldridge rofes (1995). *Corynebacterium pseudotuberculosis* Internet.

<http://www.masey.ac.nz/vwvvet/muusa/ass/micro/pseudohtm>.

Baxter T and Hanks M (1997) Caseous Lymphadenitis

<http://ivabs.massey.ac.nz/MU/VSA/ass/micro/microproject97.htm>.

Blood, D. C; Henderson, J. A y Radostets, O.M. (1983). Medicina Veterinaria. 5ª Edición . rofesion Interamericana.

Bloomfield, S. F. Arthur, M. Looney, E. Begun and Pastel, H. (1991). Comparative testing European suspension testing methods leltiers in Applied Microbiology. Vol 13, pp. 233 – 237.

Brogden, K.A; Glenn, J.S; East, N. (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. Small Rumiats Research .Vol.19. No. 2. pp 161 – 168.

Bradshaw, L.J. (1992). Laboratory Microbiology. 4ª edition Saunders College Publishing. Pp 243-244.

Braverman Y. A., Chizov-Ginzburg, A. Sarah and. Winkler M.Papel de la mosca común (*Musca domestica*) como portador de *Corynebacterium pseudotuberculosis* . Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 1999, 18 (3), 681-690.

Brown, C. C. And Olander (1987). Caseous lymphadenitis of goats and sheep: A Review. Veterinary Bulletin Vol.57. pp 1 – 11.

Del Río Gonzalez S.H. (2000) Evaluación de algunas soluciones desinfectantes y antisépticas sobre *Corynebacterium pseudotuberculosis* en presencia de exudado purulento. Tesis Profesional MVZ F.E.S.C-UNAM.

Dercksen D.P.; Nooren D. T.; Maanen K. V. And Kamp E. M (2000). A comparison of four serological test for the diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. Vet. Microbiology 75. pp 167-175.

Dercksen, D.P.; Laak, E.A and Shereuder, B. (1996). Erradication programe for caseous lymphadenitis in Goats in the Netherlands Vet. Res. Vol. 10. pp 138.

Edelsten, M. (1997). Control of caseous lymphadenitis. Vet. Rec. 141 (24). pp 631.

Effectiveness of a Caseous Lymphadenitis Vaaccine A recent study tested the efficacy of caseous DT (Colorado Serum Co.), *Corynebacterium pseudotuberculosis*  
<http://www.ag.unr.edu/ahb/articles/1999/12/99-art-wcck/.htm-5k>

Eggleton, D G; Haynes, J.A; Middleton HD and Cox, J.C. (1990). Immunisation against ovine caseous Lymphadenitis: correlation between *Corynebacterium pseudotuberculosis* toxoid content and protective efficacy in combined. Clostridial – corynebacterial vaccines. Aust. Vet. J. 68: pp 322 – 325.

Ellis A. J. (1983). Ovine caseous lymphadenitis. Compendium of contining education article. Vol. 5. No. 9. pp 504-510.

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

García Vazquez S. y Ciprian C.A. (1986) Linfadenitis caseosa en “principales enfermedades de ovinos y caprinos” Ed. Pijoan-Tórtora pp 235-239.

García V. S. (1980). Aislamiento y caracterización de corinebacterias de ovinos y caprinos en México. Tesis de Licenciatura M. V. Z. ENEP Cuautitlán.

Gyles, C. L. Thoen, Ch. O. (1993). Pathogenia of bacterial in animals. Iowa State University Press . Second edition.

Hawks Mountain Ranch. Information about: Caseous Lymphadenitis.  
[www.hawksmountainranch.com](http://www.hawksmountainranch.com)  
<http://www.hawksmountainranch.com>

Holstad, (1989). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in goats VII. Acta Vet. Scand. Vol. 30 (3): 275-283.

Holstand. G.; Nord. K. ;Eik L.O.and Gronstol H. (1998). Control of caprine arthritis virus and *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection a Norwegian goat herd Acta Veterinaria Scandinavica. 109-117 (1) 39.

Jensen and Swifts (1988). Diseases of sheep. 3ª De. Lea & Febiger. Philadelphia, 374-377.

Kimberling U. C. (1988) Jensen & Swifts diaseases sheep 3ª De. Lea Febiger pp 374-377

Lozier, S.; Pope E. B. (1992). Efects of four preparations of 0.05 % chlorhexidina Diacetate on Wound. Healing in Dogs Veterinary Sugery Vol.21.No. 2. ppp 107 – 112.

Martin, H. ; Maris, P. (1995). Resistence aux. antiseptiques, et antibiotiques de 310 souches. a gram - positif. isolées de trayons après application de produits de trempage Vet. Res. 26, 43 - 58.

Middleton, M.J.; Epstein. V.M. and Gregory. G.G. (1991) Caseous Lymphadenitis on Flinders Island ; prevalence and management. Surveys – Australian Veterinary. Journal. 68; 9. pp311-312.

Nicolet B. J. (1984). *Corynebacterium pseudotuberculosis* en: Compendio de Bacteriologia Médica Veterinaria. pp 177-178. Editorial Acribia

Oliver. S.P.; King S. H.; Lewis, M.J. and Dowlen, H.H. (1990). Efficacy of chlorhexidine as a postmilking lactation. J. Dairy Sci Vol. 73: 2230- 2235.

Oliver SP.; Lewis MJ. and Gillespie BE. (1999). Evaluation of a postmilking teat disinfectant containing a phenolic combination for the prevention of mastitis in lactating dairy cows. Journal of Food Protection. 62(11):1354-1357.

Pankey, J. W. and Philot, W. N. (1984). Evaluation of Linner Dodecyl Benzene sulfonic. acid. as. a teat dip in commercial Dairy Science .Vol. 67, No. 6 1:354 - 1358.

Paton, MW; Rose, I.R.; Hart. A. and Sutherland, S. S. (1994). New infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* reduces wool production Aust. Vet. J. Vol (71): 2

Pepin M. W.; Bisrame A. and Marly J. (1989). *Corynebacterium pseudotuberculosis* biochemical properties, production of toxin and virulence of ovine and caprine strains. Ann.Rech. Vet. 20: 111-115.

Perez Martinez y col. (1990). UNAM Bacteriologia General Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Departamento de Bacteriología primera Edición p 351.

Pijoan, P. y Tórtora, J. (1986). Principales enfermedades de los ovinos y caprinos. FESC. UNAM-México.

Quinn, P. J.; Carter, M. E. Markey B. K. and Carter. G. R. (1994). *Corynebacterium pseudotuberculosis* . Clinical Veterinary Microbiology Ediciones Wolfe.

Schreuder, B.E., Laak E, A. and Dercksen D.P. (1994). Eradication of Caseous Lymphadenitis in sheep with the help of a new developed ELISA technique. Vet. Rec. 174 - 176.

Secor, G. A.; Debhuhr L. and Gudmestad N. C. (1988). Susceptibility of *Corynebacterium sepedonicum* to Desinfectants *in vitro* plant Disease. Vol. 72: 585 - 588.

Sérieys, F; poutrel, B (1996) Field trial Evaluation of two teat dips containing nisin or polyvinylpyrrolidone iodophor designed for use before and after milking. Vet. Rev. 27 pp 295 -303.

Serikawa S.; Ito S.; Hatta T. and Kusakari N. R (1994). Protection from caseous lymphadenitis in sheep by spraying iodine tincture on shearing woundes. J. Vet. Sci. Med. 56(2): 411-412.

Simmons, C. P., Dunstan, S. J., and Tachedjian, M.A. (1998) Vaccine potential of attenuated mutants of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep, infection and immunity.

Smith. M. (1994). Lymphadenitis Caseous in Goat Medicine. Lea & Febiger. U. S. A. pp 46-49

Stoops. G. S.; Renshan H. W. and Thilsted, J. P. (1980). Ovine Caseous Lymphadenitis disease prevalence, lesion distribution, and thoracic manifestations in a population of mature culled sheep from Western United States. Am. J. Vet Res. Vol. 45.3 pp 557-561

Tortora P. J; González R. J; Cano G. L. J. (1989). Prevalencia de lesiones sugestivas de linfadenitis caseosa en caprinos en 2 sistema de manejo. VI Congreso Nacional Azteca. pp 40-42

Sumano, Ocampo (1997), Farmacología Veterinaria. Segunda Edición. P. 228.

Tortora P. J. (1988). Avances y perspectivas en el diagnóstico y profilaxis de las enfermedades de los ovinos. 1er. Simposium Internacional de Ovinocultura . 25-27 de abril. Universidad de Chapingo. Edo. de México.

Villegas. A.E, Benitez S.C (1999). Evaluación de la sensibilidad a diferentes desinfectantes *in vitro* en 30 cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Tesis MVZ FESC. UNAM.

Yeruham, I; Elad, D. VanHam. M.; Shpigel, N. Y. and Perl, S. (1997). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in Israeli cattle: Clinical and epidemiological studies. Vet. Rec. 140: 423-427.

[http://www.pipevet-com/articles/caseous-Lymphadenitis.](http://www.pipevet-com/articles/caseous-Lymphadenitis)