

Efectividad del Caldo Lactosado con Azul de Bromotimol en el control bacteriológico de las desinfecciones profilácticas en instalaciones bovinas (Effectiveness of Lactose Bromothymol Blue Broth in the bacteriological control of prophylactic disinfections in cattle facilities)

Cepero Rodríguez, Omelio: Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní Km. 5 ½. Santa Clara. CP 54830. Villa Clara. Cuba. E-mail: omelio@agronet.uclv.edu.cu | **Silveira Prado, Enrique A.:** Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní Km. 5 ½. Santa Clara. CP 54830. Villa Clara. Cuba. Teléfono: 53-42-281473. Fax: 53-42-281430. E-mail: esilveira@uclv.edu.cu | **Suárez Fernández, Yolanda E.:** Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Agraria de La Habana. San José de Las Lajas. La Habana. Cuba. E-mail: yolandas@isch.edu.cu | **González García, Oraida:** Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní Km. 5 ½. Santa Clara. CP 54830. Villa Clara. Cuba. Teléfono: 53-42-281473. Fax: 53-42-281430. E-mail: oraida@uclv.edu.cu

REDVET: 2008, Vol. IX, Nº 9

Recibido: 05.05.08 / Referencia provisional: L012_RED VET / Revisado: 22.06.08 / Referencia definitiva: 090906_RED VET / Aceptado: 04.08.08 / Publicado: 01.09.08

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090908.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090908/090906.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®. Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Resumen

Con la finalidad de evaluar la efectividad del medio de cultivo Caldo Lactosado con Azul de Bromotimol (CLAB) en el control bacteriológico de las desinfecciones profilácticas se realizó un estudio en unidades bovinas cuyos resultados se compararon en paralelo con los obtenidos con el medio

de Heifetz Modificado (HM), establecido en Cuba para esta actividad. Previa limpieza mecánica se aplicaron las soluciones desinfectantes mediante una unidad móvil y después de tres horas de exposición se realizó el muestreo mediante hisopaje de pisos, comederos, bebederos y paredes, procediéndose posteriormente a la inoculación en los medios de cultivos. La lectura de los resultados se realizó transcurridas 8, 12 y 18 horas de incubación a 37 °C, posteriormente se evaluaron estadísticamente según un análisis de varianza de clasificación simple. En las condiciones del estudio se constató la efectividad CLAB y el HM para el control bacteriológico de las desinfecciones profilácticas en unidades pecuarias, sin diferencias estadísticamente significativas, aunque existen ventajas favorables al CLAB relacionadas con su menor complejidad y frecuencia de contaminación que indudablemente repercuten en un menor costo.

Palabras clave: Caldo Lactosado con Azul de Bromotimol | Heifetz Modificado | Desinfección profiláctica | Formaldehído | Hidróxido de sodio

Abstract

With the purpose of evaluating the effectiveness of culture media Lactose Bromothymol Blue Broth (LBBB) in the bacteriological control of prophylactic disinfections, it was carried out a study in bovine units whose results were compared in parallel with those obtained with the Modified Heifetz Media (MHM), established in Cuba for this activity. After mechanical cleaning, the disinfectant solutions were applied by means of a mobile unit and after three hours of exposition, sampling was carried out by means of swabbing of floors, troughs, drinking troughs and walls, being proceeded later on to the inoculation in culture media. The reading of the results was carried out after 8, 12 and 18 hours of incubation at 37 °C, which were evaluated statistically according to an analysis of variance of simple classification. Under the conditions of this study, the effectiveness of LBBB and MHM for the bacteriological control of the prophylactic disinfections in cattle units was verified, without statistically significant differences, although favourable advantages exist to the LBBB related to its smallest complexity and frequency of contamination that undoubtedly rebound in a lower cost.

Key words: Lactose Bromothymol Blue Broth | Modified Heifetz Media | Prophylactic disinfection | Formaldehyde | Sodium hydroxide.

Introducción

En la actualidad son pocos los que niegan lo indispensable del control bacteriológico de la calidad de las desinfecciones, constituyendo el método más utilizado para evaluar la limpieza y desinfección en las instalaciones pecuarias,^[1] pues permite conocer hasta qué punto se logran los objetivos propuestos.^[2]

En el presente trabajo se evaluó la efectividad del medio de cultivo Caldo Lactosado con Azul de Bromotimol (CLAB) en el control bacteriológico de las desinfecciones profilácticas en unidades bovinas comparándose los resultados con los obtenidos en paralelo con el medio de cultivo Heifetz Modificado (HM), establecido en Cuba para esta actividad.^[3]

Materiales y Métodos

Un primer experimento se desarrolló en 30 unidades bovinas (10 recrias de terneros y 20 unidades típicas) en que se realizó la limpieza mecánica y posterior desinfección profiláctica con formaldehído al 1% a temperatura ambiente y a 50,2 °C en las recrias de terneros y a temperatura ambiente y a 46,1 °C en las unidades típicas.

Un segundo experimento se realizó en otras 25 unidades bovinas típicas pero utilizando como desinfectante una solución de hidróxido de sodio al 2% aplicada en caliente a 70 °C, según se explicó antes.

En ambos casos los desinfectantes se aplicaron mediante el camión DUK —vehículo preparado y equipado con los medios necesarios para aplicar las soluciones desinfectantes a la temperatura que se requiera— según se encuentra normado en Cuba.^[4]

Transcurridas tres horas de exposición a los desinfectantes, se tomaron muestras de pisos, comederos, bebederos y paredes a menos y más de 1 metro de altura, que se inocularon directamente en los medios de cultivo CLAB.

En el caso de la desinfección con hidróxido de sodio al 2% en unidades bovinas típicas, se utilizaron las siguientes variantes para la toma de las muestras en que se utilizó el medio de cultivo CLAB:

- I. Toma de muestras con hisopos estériles en áreas de 100 cm², las que luego se inocularon directamente en tubos con el medio de cultivo.
- II. Las muestras se tomaron según la variante I, con la diferencia de que los hisopos del muestreo fueron introducidos en tubos con 5 mL de solución salina fisiológica estéril, y luego, en el laboratorio, fueron inoculados en el CLAB.

III. Las muestras se tomaron según la variante I, pero los hisopos del muestreo fueron primeramente introducidos en tubos con 5 mL de solución de ácido acético al 0,2% en solución fisiológica estéril para ajustar el pH a la neutralidad y luego, en el laboratorio, fueron inoculados en el CLAB.

En paralelo, como referencia, se tomaron muestras según se explicó antes, pero los hisopos del muestreo fueron introducidos en tubos con 5 mL de solución salina fisiológica, luego se ajustó el pH con ácido acético al 0,2% a la neutralidad y en el laboratorio fueron procesadas, según lo establecido para el trabajo con el medio de cultivo HM.^[3]

Además, se realizaron controles de laboratorio y se tomaron muestras de superficies sin desinfectar, en cada uno de los casos.

Las muestras se incubaron a 37 °C y se realizó la lectura a las 8, 12 y 18 horas. Antes de la incubación, se midió el pH con el peachímetro a dos muestras de cada variante. Además, el 10% de las muestras de las variantes del medio CLAB, que manifestaron cambios de coloración, fueron sembradas en los medios selectivos Endo Agar y Rojo Fenol con Verde Brillante, con el objetivo de comprobar la presencia de *Escherichia coli*.

Los resultados fueron analizados estadísticamente, según un análisis de varianza de clasificación simple.^[5]

Resultados y Discusión

En las recrias de terneros no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre la frecuencia total de muestras positivas a los controles bacteriológicos con los medios de cultivo CLAB y HM después de la desinfección con formaldehído al 1% aplicado tanto a temperatura ambiente como a 50,2 °C. Puede considerarse que la desinfección fue eficaz entre el 84,0 y 86,0 % del total de muestras, aunque esta cifra puede ser inferior si se tiene en cuenta el origen de las muestras, pues en el piso y paredes de las unidades a menos de 1 m de altura, la frecuencia fue mayor que en el piso de las cunas y en las paredes a mas de 1 m de altura, resultados que son de esperar (Tabla 1).

Tabla 1. Control bacteriológico de la desinfección con formaldehído al 1% en recrias de terneros

Origen de las muestras	n	Temperatura ambiente				50,2 °C			
		CLAB		HM		CLAB		HM	
		+	%	+	%	+	%	+	%
Pisos	150	27	18,0	24	16,0	26	17,3	27	18,0

4

Paredes < 1 m de altura	50	11	22,0	12	24,0	11	22,0	12	24,0
Paredes > 1 m de altura	50	3	6,0	4	8,0	4	8,0	5	10,0
Pisos de las cunas	150	19	12,7	16	10,7	23	15,3	17	11,3
Totales	400	60	15,0	56	14,0	64	16,0	61	15,3

En las unidades bovinas típicas, en las que se aplicó el formaldehído al 1% a temperatura ambiente y a 46,1 °C, la eficacia de la desinfección fue ligeramente superior (88,0 a 90,5 %) a la obtenida en las recrias de terneros aunque las diferencias no fueron significativas. En estas unidades también se constató la influencia del origen de las muestras en la efectividad de la desinfección (Tabla 2).

Tabla 2. Control bacteriológico de la desinfección con formaldehído al 1% en instalaciones bovinas típicas

Origen de las muestras	n	Temperatura ambiente				46,1 °C			
		CLAB		HM		CLAB		HM	
		+	%	+	%	+	%	+	%
Pisos	300	44	14,7	42	14,0	50	16,7	49	16,3
Comederos	200	11	5,5	13	6,5	16	8,0	17	8,5
Bebedores	200	8	4,0	10	5,0	11	5,5	14	7,0
Paredes < 1 m de altura	200	29	14,5	37	18,5	31	15,5	39	19,5
Paredes > 1 m de altura	200	12	6,0	9	4,5	14	7,0	13	6,5
Totales	1100	104	9,5	111	10,1	122	11,1	132	12,0

Al analizar el comportamiento de las variantes del control bacteriológico con el CLAB y comparar los resultados con el estudio en paralelo realizado con el medio de cultivo HM, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los procedimientos de control utilizados. Este estudio se realizó en unidades bovinas típicas utilizando como desinfectante una solución de hidróxido de sodio al 2% aplicada en caliente a 70 °C. Como en los casos anteriores, hubo diferencias en la efectividad de la desinfección según el origen de las muestras (Tabla 3). Además, se

determinó que cuando se toman las muestras directamente con el CLAB a pH 7,4 se incrementa éste, lo que no ocurrió con las otras variantes.

Tabla 3. Control bacteriológico de la desinfección con hidróxido de sodio al 2% en instalaciones bovinas típicas

Origen de las muestras	n	CLAB (variantes)						HM	
		I		II		III		+	%
		+	%	+	%	+	%		
Pisos	250	42	16,8	48	19,2	59	23,6	54	21,6
Comederos	250	12	4,8	16	6,4	20	8,0	14	5,6
Bebedores	250	14	5,6	22	8,8	19	7,6	18	7,2
Paredes < 1 m de altura	250	16	6,4	18	7,2	16	6,4	22	8,8
Totales	1000	84	8,4	104	10,4	114	11,4	108	10,8

En el 92% de las muestras seleccionadas (10%) de las variantes con el medio de cultivo CLAB que manifestaron cambios de coloración y que fueron sembradas en los medios selectivos Endo Agar y Rojo Fenol con Verde Brillante se aisló *Escherichia coli*.

Resumiendo los resultados expuestos anteriormente (Tablas 1, 2 y 3), no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre el procedimiento de control bacteriológico de ensayo (CLAB) y el de referencia (HM).

En 1986 el colectivo que trabaja en la tarea de desinfección de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas y especialistas del Instituto de Medicina Veterinaria de la provincia de Villa Clara (IMV), presentaron ante la Comisión Nacional de Extensión de Salud Animal los resultados del trabajo "Utilización del Caldo Lactosado con Azul de Bromotimol (CLAB) en el control de las desinfecciones profilácticas", aprobándose dicho trabajo para ser desarrollado en la mencionada provincia. Al respecto, se plantearon inquietudes en el caso de las desinfecciones realizadas con soluciones de hidróxido de sodio al 2%, fundamentadas en el hecho de que este desinfectante posee un pH alcalino y cuando se emplea el medio CLAB, los resultados pueden afectarse por esa causa. Sin embargo, con las desinfecciones efectuadas con solución de formaldehído al 1%, no se plantearon señalamientos, ya que este desinfectante posee un pH que oscila alrededor del neutro y el CLAB no sufre variaciones de pH cuando se introduce el hisopo del muestreo dentro del mismo.^[6]

González *et al*^[7] señalaron que el medio CLAB no debe utilizarse en el control de desinfecciones profilácticas en las que se emplean desinfectantes ácidos o alcalinos, dadas las posibles alteraciones del pH que puede sufrir el medio de cultivo. Sin embargo, estos investigadores comprobaron la inexistencia de diferencias significativas entre los resultados del medio CLAB que se toma normalmente en relación a cuatro variantes de dicho medio, en diferentes experimentos en que utilizaron el hidróxido de sodio al 2% en varias concentraciones.

Bartumeu *et al*^[8] evaluaron la efectividad de un desinfectante derivado de los amonios cuaternarios mediante la utilización de los medios de cultivo HM y el CLAB y no detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los mismos de acuerdo al número de muestras tomadas en diferentes superficies en las instalaciones pecuarias donde se desarrolló la investigación.

El método de control bacteriológico de la desinfección con el medio de cultivo HM es muy trabajoso y las posibilidades de contaminación secundaria en el momento de la toma de muestras son altas si no se toman medidas extremas, no obstante es el método que aún se mantiene vigente en Cuba, y con el que hay que controlar las desinfecciones, evaluar un nuevo desinfectante o establecer cualquier comparación con otros métodos bacteriológicos^[3,9]

Los investigadores cubanos coinciden en el criterio de que el medio de cultivo HM resulta de mayor complejidad que otros medios de cultivos radicando ésta en que hay que efectuar una inactivación de acuerdo al desinfectante empleado, lograr una neutralización del mismo a pH 7 y la solución que posteriormente se centrifuga entonces se siembra en el medio de cultivo. Por otra parte el CLAB, se siembra directamente de las áreas después de desinfectadas o se hace una previa dilución en solución salina fisiológica y después se siembra, aspectos éstos en lo que se muestra superior al medio de cultivo normado para evaluar las desinfecciones profilácticas en las instalaciones pecuarias, con resultados superiores o muy parecidos.^[8-11] Según lo expuesto anteriormente, la menor complejidad y frecuencia de contaminación del CLAB indudablemente son elementos que contribuyen a la reducción del costo cuando se emplea este método.

Conclusiones.

En las condiciones del estudio no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados del medio CLAB normal y las variantes evaluadas de éste al compararlos con los obtenidos con el medio HM. Se detectó un ligero incremento de pH cuando se utiliza el medio CLAB normal y no así con las variantes II y III. Se infiere un menor costo de operación al utilizar el CLAB debido a su menor complejidad y frecuencia de contaminación que el HM

Recomendaciones

- Se recomienda el medio de CLAB para valorar la calidad de las desinfecciones profilácticas utilizando la solución de formaldehído al 1%, ya que brinda resultados confiables entre las 8 y 12 horas, que no difieren de los que se obtienen cuando se emplea el medio de HM.
- Utilizar como una nueva opción las variantes II y III del medio de cultivo CLAB para el control de las desinfecciones preventivas realizadas con solución de hidróxido de sodio al 2%, ya que los resultados no difieren desde el punto de vista estadístico, resultando un método rápido, económico y menos laborioso.

Bibliografía

1. Beer W. Untersuchungen zur Wirksamkeit der Prophylaktischen Reinigung und Desinfektion von Oberflächen in Kälber. Mh Vet Med 1992; 35(11):84-90.
2. Carrasco A, Hernández O. Control y eliminación de fuentes de infección. Zoonhigiene Tropical. C. Habana: Editorial Félix Varela. 2004; p 171-174.
3. Comité Estatal de Normalización. Norma cubana NC 55-08:86. Servicios Veterinarios. Desinfección. Control Bacteriológico. C. Habana: Comité Estatal de Normalización (CEN). 1986.
4. Comité Estatal de Normalización. Norma cubana NC 55-06:86. Servicios Veterinarios. Desinfección. Regulaciones generales. C. Habana: Comité Estatal de Normalización (CEN). 1986.
5. SPSS for Windows. Release 9.0.0 Standard Version. SPSS Inc. 1989-1999.
6. Cepero O, Silveira EA, Suárez Yolanda, Hurtado A, Martínez A, González Oraidá, Herrada Nancy. Utilización del Caldo Lactosado con Azul de Bromotimol (CLAB) en el control de las desinfecciones profilácticas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Santa Clara. Cuba. Informe final de investigación ante la Comisión Nacional de Extensión de Salud Animal. Ciudad Habana. 1986.
7. González N, Methling W, Bu Lilian. Modifikation des Bromthymolblau-Laktose-Schnelltestes für die Kontrolle der Desinfektion mit Natronlauge. Mh Vet Med 1988; 43: 300-303.
8. Bartumeu RO, Cepero O, Castillo JC, Pérez S. Evaluación de la efectividad de un desinfectante derivado del grupo de los amonios cuaternarios para el enfrentamiento a los desastres biológicos. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, ISSN 1695-7504, 2003; Vol. IV No. 4. España. [online] Disponible en URL: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030305.html> [citado 10 mayo 2006].

9. Cepero O, Suárez Yolanda, Martínez A. Comparación de tres métodos bacteriológicos en el control de las desinfecciones profilácticas en instalaciones pecuarias. Rev Prod Anim 1997; 3(4):51-54.
10. Cepero O. Die Utrsamkut derprophylaktischen, Desinfektion der Stalle mittels Natronlauge and Formol de hyd unter den Klimabedingungls Kubas and ebre Uberprifung dur ch. Microbiologische kontrallmethoden kontrallmethoden. Disertacion, 1989.
11. González N. Evaluación de diferentes sustancias desinfectantes en condiciones de laboratorio, semiproducción y producción. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). San José de las Lajas. Cuba. 1991.

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria (ISSN nº 1695-7504) es medio oficial de comunicación científico, técnico y profesional de la Comunidad Virtual Veterinaria, se edita en Internet ininterrumpidamente desde 1996. Es una revista científica veterinaria referenciada, arbitrada, online, mensual y con acceso a los artículos íntegros. Publica trabajos científicos, de investigación, de revisión, tesinas, tesis doctorales, casos clínicos, artículos divulgativos, de opinión, técnicos u otros de cualquier especialidad en el campo de las **Ciencias Veterinarias** o relacionadas a nivel internacional.

Se puede acceder vía web a través del portal [Veterinaria.org®](http://www.veterinaria.org). <http://www.veterinaria.org> o en desde **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Se dispone de la posibilidad de recibir el Sumario de cada número por [correo electrónico](mailto:redvet@veterinaria.org) solicitándolo a redvet@veterinaria.org

Si deseas postular tu artículo para ser publicado en **REDVET®** contacta con redvet@veterinaria.org después de leer las Normas de Publicación en <http://www.veterinaria.org/normas.html>

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica siempre que se cite la fuente, enlace con [Veterinaria.org®](http://www.veterinaria.org). <http://www.veterinaria.org> y **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Veterinaria Organización S.L.® (Copyright) 1996-2008 E_mail: info@veterinaria.org