

## Efecto de dos protocolos de antisepsia del campo operatorio sobre la reducción del número de bacterias de la piel en bovinos sometidos a cirugías reproductivas a campo

### Effect of two surgical field antiseptic protocols on the reduction of number of skin bacteria in bovines undergoing field reproductive surgeries

Roger González V.<sup>1\*</sup>, Cesar E. Britez V.<sup>2</sup>, María J. Caballero R.<sup>1</sup>, Ynés J. Bazán M.<sup>1</sup>, Edith L. Maldonado A.<sup>3</sup>, Luz C. Cardozo B.<sup>4</sup>, María I. Rodríguez A.<sup>5</sup>

#### RESUMEN

Se determinó el efecto de dos protocolos de antisepsia del campo operatorio sobre la reducción del número de bacterias de la piel en bovinos sometidos a cirugías reproductivas a campo. Se tomaron muestras antes ( $M_1$ ) luego de la antisepsia ( $M_2$ ) y al finalizar el procedimiento quirúrgico ( $M_3$ ) en 12 bovinos mestizos de 18 a 24 meses de edad. Se realizó la tricotomía del campo operatorio previo a los dos protocolos de antisepsia: Iodopovidona al 7.5% y Gluconato de Clorhexidina al 2% (ambos con 3 min de contacto y aclaramiento con alcohol isopropílico de 2 min de contacto) y posterior embrocado con iodopovidona solución al 1% y clorhexidina solución al 0.5%, respectivamente. Los

<sup>1</sup> Dirección de Postgrado, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

<sup>2</sup> Catedra de Técnica Operatoria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

<sup>3</sup> Coordinación de Tesis-Dirección Académica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

<sup>4</sup> Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

<sup>5</sup> Departamento de Proyectos de Investigación, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

\* E-mail: [rgonzalez@vet.una.py](mailto:rgonzalez@vet.una.py)

Recibido: 23 de agosto de 2022

Aceptado para publicación: 12 de marzo de 2023

Publicado: 28 de abril de 2023

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

hisopados de piel fueron procesadas por la técnica de recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/ml). La carga bacteriana de los dos protocolos fue analizada con el test de Mann-Whitney-Wilcoxon para muestras independientes, sin encontrar diferencias significativas entre protocolos por momento de evaluación ( $p>0.05$ ). El test de Friedman indicó una reducción significativa entre  $M_1$  con  $M_2$  y  $M_3$  ( $p<0.05$ ), pero no entre  $M_2$  y  $M_3$  ( $p>0.05$ ).

**Palabras clave:** antisepsia, gluconato de clorhexidina 2%, iodopovidona 7.5%, recuento de mesófilos

## ABSTRACT

The effect of two surgical field antiseptics protocols on the reduction of the number of skin bacteria in bovines subjected to field reproductive surgeries was determined. Samples were taken before ( $M_1$ ), and after antiseptics ( $M_2$ ) and at the end of the surgical procedure ( $M_3$ ) in 12 crossbred bovines aged 18 to 24 months. Trichotomy of the operating field was performed prior to the two antiseptics protocols: 7.5% povidone-iodine and 2% Chlorhexidine Gluconate (both with 3-min contact time and 2-min contact clearance with isopropyl alcohol) and later embrocation with 1% povidone-iodine solution and 0.5% chlorhexidine solution, respectively. The skin swabs were processed by the count technique of colony forming units (CFU/ml). The bacterial load of the two protocols was analysed with the Mann-Whitney-Wilcoxon test for independent samples, without finding significant differences between protocols by evaluation time ( $p>0.05$ ). The Friedman test indicated a significant reduction between  $M_1$  with  $M_2$  and  $M_3$  ( $p<0.05$ ), but not between  $M_2$  and  $M_3$  ( $p>0.05$ ).

**Key words:** antiseptics, chlorhexidine gluconate 2%, iodopovidone 7.5%, count of mesophiles

## INTRODUCCIÓN

Evitar las infecciones de las heridas quirúrgicas fue preocupación constante y temible de los cirujanos que antecedieron a la época de Pasteur (Slatter, 2006). La antisepsia constituye una práctica fundamental en cirugía para reducir el número de gérmenes contaminantes de la piel y campo operatorio. El objetivo de una cirugía aséptica es reducir el nivel de contaminación de la herida hasta un valor tal que las defensas del huésped lo puedan controlar (Slatter, 2006; Fossum, 2009).

En bovinos, una vez decidido el abordaje quirúrgico, como regla empírica se recomienda dejar un margen de 25 cm sin pelo

alrededor del sitio quirúrgico. En animales de piel fina, una preparación inicial con un cepillo limpio y duro puede ser de utilidad. Las soluciones para lavado contienen povidona yodada, gluconato de clorhexidina al 4% o diacetato de clorhexidina al 2%, pudiendo enjuagarse con agua, solución salina, o alcohol isopropílico al 70% (Garnero y Perusia, 2002; Fubini, Ducharme 2005, Weaver y Steiner, 2005).

Diversos protocolos con diferentes concentraciones y tiempos de acción han sido estudiados. En este sentido, Bourel (2013) comparó dos protocolos de antisepsia quirúrgica para ganado en un entorno de campo sometidas a una laparotomía de pie, utilizando un protocolo estándar de lavado de tres

minutos, enjuague con agua del grifo, antisepsia quirúrgica de tres minutos con jabón de clorhexidina estéril, paso alterno de alcohol y solución de clorhexidina al 2% con un protocolo preoperatorio abreviado de tres minutos (tres pasadas de gluconato de clorhexidina al 0.5% en solución de alcohol isopropílico al 70%) sin encontrar diferencias entre protocolos para las unidades formadoras de colonias (UFC) absolutas y el porcentaje de reducción de UFC perioperatorio.

Siguiendo la misma línea de análisis, Bédard *et al.* (2001) estudiaron cuatro protocolos de preparación preoperatoria en bovinos utilizando antisépticos (gluconato de clorhexidina [CG] y povidona yodada [PI]) y dos técnicas de depilación (maquinilla sola o maquinilla seguida de maquinilla de afeitar) en piel obteniendo como resultado una disminución significativa e igual entre grupos en el número de UFC. Por su parte, Desrochers *et al.* (1996) evaluaron dos preparaciones de lavado quirúrgico en bovinos, (jabón de povidona yodada y alcohol isopropílico versus gluconato de clorhexidina y alcohol isopropílico) obteniendo resultados similares.

Ante esto, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de dos protocolos de antisepsia del campo operatorio sobre la reducción del número de bacterias de la piel en bovinos sometidos a cirugías reproductivas a campo. Se resalta la realización de este tipo de estudios, basado en el hecho que realizando una adecuada antisepsia del campo quirúrgico, y teniendo todos los cuidados generales y específicos de asepsia, se disminuye o incluso anula la utilización de antibióticos en ganado bovino, evitando de esta manera posibles resistencias antimicrobianas. En este sentido, Dumas *et al.* (2016) describen que las infecciones del sitio quirúrgico (ISQ) son una consecuencia poco común, pero significativa, de las intervenciones quirúrgicas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio de campo fue realizado en una finca del departamento de Caazapá, Paraguay, y los estudios laboratoriales en el Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción. La investigación se centró en el estudio de la antisepsia de procedimientos quirúrgicos. Todos los procedimientos fueron realizados por médicos veterinarios titulados y habilitados en el país, contando con el consentimiento informado previo por parte del propietario del establecimiento, y observando el cumplimiento de la Ley N.º 4840 de Protección y Bienestar Animal de la República del Paraguay (Poder Legislativo de la República del Paraguay, 2013).

Se tomaron muestras antes ( $M_1$ ), luego de la antisepsia ( $M_2$ ) y al finalizar el procedimiento quirúrgico ( $M_3$ ) en 12 bovinos mestizos de 18 a 24 meses de edad. Se realizó la tricotomía del campo operatorio con rasuradora eléctrica de la región anatómica de interés para el procedimiento quirúrgico una vez que los bovinos se encontraron premedicados e inducidos a la anestesia quirúrgica. La toma de muestras de la superficie cutánea, una vez aplicados ambos protocolos e iniciada la técnica quirúrgica, fue realizada a doble ciego. En este sentido, tanto el operador que tomó las muestras durante la cirugía así como el operador que realizó los cultivos microbiológicos desconocían la técnica antiséptica utilizada.

La primera muestra ( $M_1$ ) se obtuvo mediante hisopado cutáneo en el sitio donde se planeó la incisión de la piel (planicie del ijar inferior y zona prepucial) mediante frotado suave en 10 movimientos de la superficie en dirección al eje mayor de la incisión.

Los antisépticos evaluados fueron povidona yodada al 7.5% (Protocolo A; Fi-



Figura 1. Antisepsia del campo operatorio con jabón de iodopovidona al 7.5% de manera circular centrífuga

gura 1) y clorhexidina al 2% (Protocolo B). En ambos casos, el procedimiento de antisepsia incluyó una combinación de solución jabonosa del antiséptico para el lavado de la superficie cutánea mediante frotamiento centrífugo no muy intenso contorunda de gasa estéril embebida en el antiséptico (3 min de contacto y aclaramiento con alcohol isopropílico de 2 min de contacto. El lavado se hizo tres veces y se continuó con la embrocación con la solución antiséptica mediante aspersion. Se utilizaron torundas estériles con las manos provistas de guantes estériles.

El lavado se inició en el sitio de incisión, cercano al centro del área rasurada. Se empleó un movimiento circular centrífugo, moviéndose desde el centro hasta la periferia. Las torundas no fueron regresadas desde la periferia hasta el centro a fin de evitar la transferencia de bacterias sobre el sitio de la incisión. Las torundas se descartaron luego de alcanzar la periferia. Tanto el procedimiento de antisepsia como de obtención de muestras fue realizado por el mismo operador.

Una vez aplicados los procedimientos de antisepsia y limitado el campo operatorio, se procedió al segundo muestreo ( $M_2$ ) de la superficie cutánea en la misma zona (Figura 2). La tercera muestra ( $M_3$ ) fue obtenida al finalizar el procedimiento quirúrgico del punto inmediato lateralmente a la herida quirúrgica suturada (Figura 3).

Los hisopos con las muestras fueron introducidos en tubos con medio de transporte Stuart, debidamente identificados, para su traslado al laboratorio. Las muestras fueron procesadas por la técnica de recuento de mesófilos a fin de obtener la cantidad de bacterias en unidades formadoras de colonia (UFC).



Figura 2. Obtención de muestra  $M_2$  luego de la embrocación

La técnica de recuento implicó la colocación del hisopo conteniendo la muestra en un tubo con 9 ml de agua peptonada. A partir de allí se realizaron seis diluciones sucesivas tomando 1 ml del tubo y colocando en 9 ml de agua peptonada. Las muestras en las diferentes diluciones se cultivaron por duplicado en agar recuento en placa, colocando 100  $\mu$ l en cada placa y esparciendo con la espátula de Drigasky. Todas las placas se llevaron a la estufa a 37 °C durante 24 h. Se contabilizaron e identificaron las placas que contenían de 30 a 300 colonias, y se multiplicaron por la inversa del factor de dilución. Los resultados, fueron expresados en UFC/ml.



Figura 3. Obtención de la muestra 3 inmediatamente al finalizar el procedimiento quirúrgico

### Análisis Estadístico

Los datos se analizaron con el software R (R Core Team, 2021). Los análisis estadísticos se efectuaron a partir de la transformación logarítmica de los recuentos bacterianos a logaritmo de base 10 en los tres momentos de evaluación y para cada uno de los antisépticos. Se estimaron medidas de tendencia central y dispersión. Tras verificar la distribución teórica de las observaciones con el test de Shapiro Wilks y la homocedasticidad

con el test Fligner-Killeen, se aplicó el test de Mann-Whitney-Wilcoxon para muestras independientes para comparar el crecimiento bacteriano en dos grupos sometidos a diferentes protocolos de antisepsia y el test de Friedman para datos pareados al analizar el crecimiento bacteriano en los mismos individuos en tres momentos diferentes.

## RESULTADOS

El Cuadro 1 resume los valores de la estadística descriptiva sobre el crecimiento bacteriano en valores transformados a logaritmo de base 10. Se observa una drástica reducción en el número de bacterias en los momentos dos y tres con relación al momento previo a la antisepsia (momento uno) ( $p < 0.05$ ), mientras que no hubo diferencia significativa en el recuento bacteriano entre las muestras del momento 2 con el momento 3 ( $p > 0.05$ ). Por otro lado, valores mínimos similares se registraron luego de la antisepsia (momento dos) y al finalizar el procedimiento quirúrgico (momento tres) utilizando tanto povidona yodada al 7.5 % como gluconato de clorhexidina al 2%. Cabe destacar que con la utilización de ambos antisépticos se registraron valores promedio negativos en los momentos dos y tres, indicando así una baja proliferación de bacterias.

Cuadro 1. Valores de la estadística descriptiva referente al crecimiento bacteriano transformado a logaritmo de base 10, utilizando dos protocolos de antisepsia en bovinos en tres momentos de evaluación

Antiséptico	Momento	Contaje de bacterias (Log10)					
		$\bar{x}$	$\pm DE$	Med	Var	Min	Máx
Clorhexidina	1	4.32	1.78	4.42	3.18	2.19	6.14
Iodopovidona		3.79	1.53	3.16	2.33	2.26	6.09
Clorhexidina	2	-3.04	2.34	-4	5.49	-4	1.74
Iodopovidona		-4	0	-4	0	-4	-4
Clorhexidina	3	-2.90	2.69	-4	7.24	-4	2.59
Iodopovidona		-0.79	3.60	-1.26	13.0	-4	3.77

$\bar{x}$  = media;  $\pm DE$  = desvío estándar; Med = mediana; Var = Varianza; Min = valor mínimo; Máx = valor máximo; Log10 = contaje de bacterias con transformación logarítmica de base 10

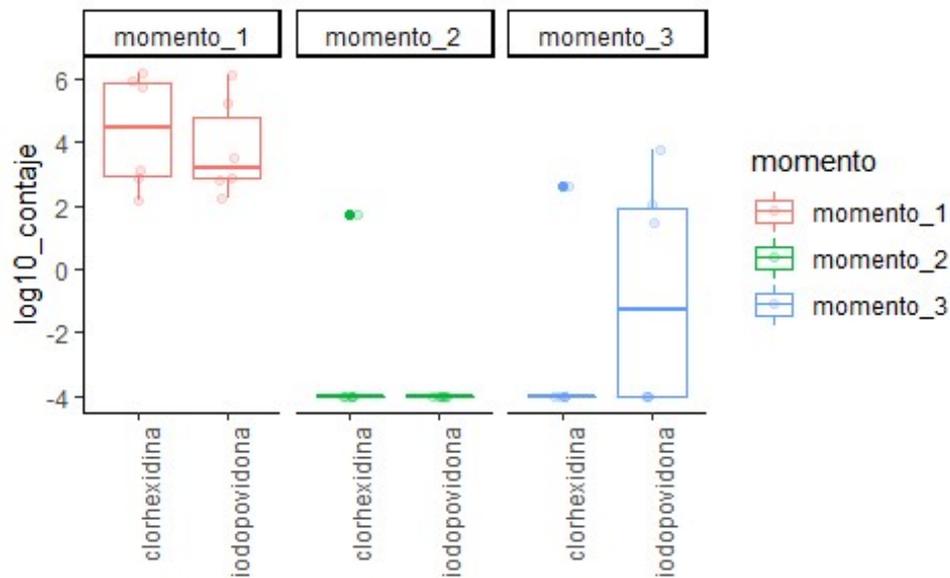


Figura 1. Distribución del recuento de bacterias antes de la antisepsia (momento\_1), luego de la antisepsia (momento\_2) y al finalizar el procedimiento quirúrgico (momento\_3) en bovinos, utilizando dos antisépticos diferentes

No se encontró diferencia significativa entre protocolos con relación a los recuentos bacterianos ( $p > 0.05$ ). La Figura 1 muestra la distribución de las observaciones en los tres momentos de evaluación para los dos protocolos de antisepsia. Se destacan valores positivos en el recuento de bacterias antes de la antisepsia (momento uno) y negativos en los momentos dos y tres; de igual manera, se identificaron observaciones extremas luego de la antisepsia y al finalizar el procedimiento quirúrgico con la utilización de clorhexidina, así como una mayor dispersión de las observaciones en el momento tres, utilizando iodopovidona.

## DISCUSIÓN

Los valores observados han sido bastante extremos, lo cual es de esperar en estudios microbiológicos a campo, debido a que

muchos factores contaminantes no pueden ser controlados. Por ejemplo, los animales se encontraban libres en potreros, no pudiéndose establecer la higienización del animal 24 horas antes, entre otros factores, situación que en ambientes hospitalarios pueden ser controlados.

Se observó una drástica disminución de la carga bacteriana en ambos protocolos, lo cual podría relacionarse con las propiedades antisépticas de cada uno de los compuestos. En este sentido, la acción biocida en la povidona yodada está dada por el yodo en solución acuosa (principalmente al yodo molecular, más que a una o más de las especies iónicas). El yodo molecular es capaz, asimismo, de atravesar la pared celular de los microorganismos con mucha rapidez, e interaccionar (yodo libre) con las enzimas y proteínas celulares, provocando alteraciones mortales para la estructura proteica (Botana, 2002).

Algunos productos tensoactivos pueden disolver el yodo para formar yodóforos, que son soluciones de yodo en polivinilpirrolidona (Botana, 2002). Los yodóforos han sustituido en gran parte las soluciones de yodo en alcohol y al yoduro potásico (solución de lugol), y conservan la actividad germicida del yodo, pero no sus propiedades nocivas (Botana, 2002; Hernández y Negro, 2013). Estos yodóforos se utilizan con frecuencia en medicina veterinaria, especialmente para la antisepsia prequirúrgica de la piel del cirujano y del campo quirúrgico del paciente (Botana, 2002; Lang y Serrano, 2010; Hernández y Negro, 2013).

La actividad bactericida del gluconato de clorhexidina se asocia a destrucción de la membrana celular bacteriana con precipitación y escape del contenido citoplasmático de su contenido (Sumano y Ocampo, 1997). Es efectiva frente a las formas vegetativas de las bacterias gramnegativas, pero especialmente frente a las grampositivas. La clorhexidina tiene un rápido inicio de acción y trabaja mejor a pH de 5.5 a 7; asimismo, permanece efectiva en presencia de alcohol, así como también de sangre, pus y otro material orgánico (Sumano y Ocampo, 1997). El contacto más prolongado aumenta la reducción inicial del recuento bacteriano de forma tal que el tiempo de contacto de al menos 2 min es el recomendado para una máxima efectividad (Slatter, 2006). En medicina veterinaria, la clorhexidina se utiliza como antiséptico prequirúrgico, para lavado de heridas o baño de las ubres (Sumano y Ocampo, 1997; Slatter, 2006).

Se debe tener en cuenta la utilización de alcohol etílico de 96° en ambos protocolos. Slatter (2006) destacó que la acción antibacteriana de los alcoholes depende de su capacidad para desnaturalizar las proteínas y disolver los lípidos. Varios estudios han demostrado que el etanol al 70% puede destruir el 90% de las bacterias cutáneas después de un tiempo de contacto de dos minu-

tos; sin embargo, los alcoholes son más eficaces cuando se utilizan sobre la piel limpia y su actividad germicida disminuye en presencia de materia orgánica (Slatter, 2006).

Los alcoholes aumentan la efectividad de la clorhexidina y los yodóforos (Botana, 2002). El alcohol aumenta la liberación del yodo libre desde los yodóforos, por lo que a menudo estos productos se usan en forma conjunta, aunque el alcohol puede disminuir la acción persistente del yodóforo (Sumano y Ocampo, 1997).

Varios investigadores (Desrochers *et al.*, 1996; Bédard *et al.*, 2001; Bourel, 2013) no detectaron diferencias significativas en la reducción de UFC absolutas al aplicar protocolos de antisepsia utilizando los productos bajo evaluación, tal y como ha sido encontrado en el presente estudio.

Desde el punto de vista de la aplicación de estos estudios en medicina veterinaria actual, se puede resaltar su importancia basado en que ya, en 2017, la Agencia Europea de Medicamentos (EMA, por sus siglas en inglés) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) revisaron las medidas adoptadas en la Unión Europea para reducir la necesidad y el uso de antimicrobianos en los animales productores de alimentos y los impactos resultantes sobre la resistencia a los antimicrobianos (AMR). Se deben revisar las opciones para eliminar gradualmente la mayor parte del uso preventivo de antimicrobianos y para reducir y perfeccionar la metafilaxis mediante la aplicación de medidas alternativas reconocidas. En este sentido, la adecuada y correcta aplicación de las normas de asepsia quirúrgica es una alternativa reconocida en la disminución de la probabilidad de infección en la herida quirúrgica y, por ende, en la disminución de uso profiláctico o curativo de antibióticos.

## CONCLUSIONES

- Los dos protocolos de antisepsia para la preparación del campo operatorio en cirugías a campo en bovinos obtuvieron una reducción significativa de las Unidades Formadores de Colonias (UFC).
- Bajo las condiciones del presente estudio, no se detectaron diferencias significativas en la reducción de la carga bacteriana entre los dos protocolos de antisepsia evaluados.

## LITERATURA CITADA

1. **Bédard S, Desrochers A, Fecteau GY, Higgins R 2001.** Comparaison de quatre protocoles de préparation préopératoire chez le bovin. *Can Vet J* 42: 199-203.
2. **Botana L, Landoni F, Martín Jimenez T. 2002.** Farmacología y terapéutica veterinaria. 2ª ed. México: Intermédica. 734 p.
3. **Bourel C, Buczinski S, Desrochers A, Harvey D. 2013.** Comparison of two surgical site protocols for cattle in a field setting. *Vet Surg* 42: 223-228. doi: 10.1111/j.1532-950X.2013.01089.x
4. **Desrochers A, St-Jean G; Anderson DE, Rogers DP, Chengappa MM. 1996.** Comparative evaluation of two surgical scrub preparations in cattle. *Vet Surg* 25: 336-341. doi: 10.1111/j.1532-950x.1996.tb01422.x
5. **Dumas SE, Francés HM, Lavernia SN, Ramírez CR, Marrón LJ, Bromfield CR, Garrett EF, et al. 2016.** Judicious use of prophylactic antimicrobials to reduce abdominal surgical site infections in periparturient cows: Part 1. A risk factor review. *Vet Rec* 178: 654-660. doi: 10.1136/vr.i103677
6. **EMA Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP) and EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). 2017.** EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA). *EFSA J* 15: e04666. doi: 10.2903/j.efsa.2017.4666
7. **Fossum T, Hedlund C, Hulse D, Jhonson A. 2009.** Cirugía en pequeños animales. 3º ed. Buenos Aires, Argentina: Intermédica. 1282 p.
8. **Fubini SL, Ducharme NG 2005.** Cirugía en animales de granja. Buenos Aires, Argentina: Intermédica. 622 p.
9. **Garnero O, Perusia O. 2002.** Manual de anestésicos y cirugías de bovinos. Argentina. 125 p.
10. **Hernández S, Negro V. 2013.** Fundamentos de la cirugía veterinaria. Buenos Aires, Argentina: Bmpress. 275 p.
11. **Lang A, Serrano MT. 2010.** Curso de Cirugías en bovinos a campo. 2ª ed. Brasilia, Brasil. 56 p.
12. **Poder Legislativo de la República del Paraguay. 2013.** Ley N.º 4840 / De Protección y Bienestar Animal de la República del Paraguay. [Internet]. Disponible en <https://www.globalanimallaw.org/downloads/database/national/paraguay/par135596.pdf>
13. **R Core Team. 2021.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
14. **Slatter D. 2006.** Texto de cirugía de pequeños animales. 5ª ed. Barcelona, España: Salvat. 2830 p.
15. **Sumano H, Ocampo L. 1997.** Farmacología veterinaria. 2ª ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana. 680 p.
16. **Weaver AD, St Jean G, Steiner A. 2005.** Bovine surgery and lameness. Berne, Switzerland. 278 p.