



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**"EFECTOS DEL HALOTANO SOBRE LA ACCION
LETAL AGUDA DEL CLORANFENICOL"**

T E S I S

Que para obtener el título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

J. Leticia González Villaseñor

Asesores: MVZ. Héctor Sumano López

MVZ. Ricardo Navarro Sierro

MVZ. Jaime Navarro Hernández

México, D. F.

1983



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

I N D I C E

| | Página |
|----------------------|--------|
| Resumen | 1 |
| Introducción | 3 |
| Hipótesis | 14 |
| Objetivos | 15 |
| Material y Métodos | 15 |
| Fármacos | 15 |
| Biológicos | 16 |
| Aparatos de Medición | 16 |
| Equipo en general | 16 |
| Resultados | 21 |
| Discusión | 33 |
| Conclusiones | 36 |
| Literatura citada | 37 |

R E S U M E N

En este trabajo se estudió la posibilidad de algún tipo - de interacción nociva entre el cloranfenicol y el halotano, - para lo cual se hicieron dos experimentos:

El primero de ellos consistió en comparar la acción de diferentes dosis de cloranfenicol, contra las mismas dosis de - cloranfenicol aunadas a los efectos provocados por el anestésico halotano, para ello se utilizó como material biológico 140 ratones de ambos sexos.

Los resultados indican una potencialización de los efec - tos letales del cloranfenicol, observándose que la dosis letal 50% del cloranfenicol es de 1668 mg/Kg., mientras que el admi - nistrarlo en presencia de los efectos de halotano la dosis le - tal 50% se redujó a 1098 mg/Kg., esto es que al combinarlo su letalidad aumenta de manera significativa. Este aumento de la toxicidad es de 68.4 a 75.9%, con un 95% de confianza.

En el segundo experimento se utilizaron 8 perros, los que fueron sometidos a anestesia con halotano. Bajo estas condiciones se registraron sus constantes fisiológicas basales: pre - sión sistólica, presión diastólica, frecuencia cardíaca y fre - cuencia respiratoria, posterior a ello se procedió a la aplicación de cloranfenicol por vía endovenosa en diferentes dosis,

a la mitad de los animales se les administró dosis terapéuticas de 50 mg/Kg., y al resto dosis letales 50% (DL50%), que según la literatura es de 150 mg/Kg., registrándose también en este caso las constantes mencionadas con anterioridad, con el propósito de hacer una comparación entre estas dos.

El cambio en las constantes fisiológicas al administrar el antibiótico no fué significativo al analizarlo mediante una prueba F^2 de Hotteling.

1.- INTRODUCCION

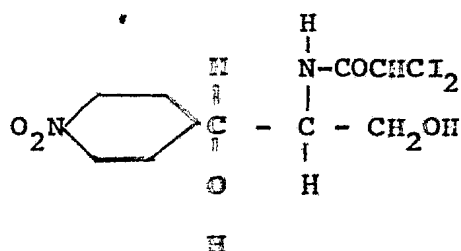
El médico veterinario conoce las respuestas paradójicas - que pueden presentarse en un individuo con la administración de fármacos comunmente atóxicos. Dichas respuestas son, a menudo, consecuencias de hipersensibilidad, peculiaridad de especie, raza, y por una interacción medicamentosa, siendo ésta, la más - común.

En ocasiones, la combinación de dos o más fármacos, provoca la anulación de sus efectos, pero en otros casos, las combinaciones producen efectos nocivos al paciente (21). Esta situación se presenta más facilmente cuando se usan fármacos que actúan sobre el sistema nervioso; tal es el caso de los tranquilizantes, anestésicos y fármacos de acción autonómica (16).

Entre los fármacos que se consideran como parte del armamentario medicamentoso básico de una clínica, se puede citar - con seguridad al antibiótico cloranfenicol y al anestésico inhalado halotano. En virtud de observaciones clínicas no reportadas, se consideró pertinente investigar si el halotano facilita o no, los efectos tóxicos agudos del cloranfenicol succinato. Para ello se presenta una breve descripción de las características farmacológicas básicas de estos dos medicamentos.

1.1. CLORANFENICOL

El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro, descubierto por Burkholder en 1947, a partir del *Streptomyces Venezuelae*. En 1949 se definió su fórmula y se inició su producción en grandes cantidades y en forma sintética. Su estructura es la siguiente



El cloranfenicol es soluble en agua (2.5 mg/ml a 25°C), muy soluble en metanol, etanol, butanol y propilenglicol, es insoluble en aceites vegetales y escasamente soluble en ácidos o alcalis. Es de sabor amargo, sus cristales son blanquecinos y su peso molecular es de 323.13. El cloranfenicol es termoestable en su forma seca o líquida. En agua destilada a 25°C, es estable por lo menos 25 hrs. a un pH de 2 a 9; el pH de 10.8 lo destruye.

1.1.1. Mecanismo de acción

El cloranfenicol actúa sobre la sub-unidad ribosomal 50s, inhibiendo la síntesis de proteínas bacterianas, bloqueando la unión de los aminoácidos a la cadena polipeptídica en formación

inhibiendo así el proceso de crecimiento. No interfiere con la actividad de los aminoácidos, con la formación del aminoácido o con las proteínas ya existentes. Sin embargo, se le considera tanto bacteriostático como bactericida (11, 15, 17, 20).

1.1.2. Absorción y metabolismo

La distribución del cloranfenicol en los tejidos varía de acuerdo con algunos factores como son: la vía de administración, la especie y el tejido en particular. Se considera que su distribución es buena (5, 7, 18, 23). El tamaño de la partícula y el tamaño del paciente influyen en la rapidez de su absorción. En términos generales, a los 30 minutos se establece el equilibrio entre la sangre y los tejidos, donde finalmente se acumula.

Se le ha detectado en el líquido cefalorraquídeo, en pequeñas cantidades, atraviesa la placenta y se acumula en la leche alcanzando un 50% de los niveles plasmáticos. La mejor vía de administración es la oral, donde la droga se absorbe eficientemente.

La duración media del coranfenicol en algunas especies es:

| | | | |
|--------|----------|----------|----------|
| gatos | 5.1 hrs. | borregos | 1.5 hrs. |
| perros | 4.2 hrs. | potros | 2.0 hrs. |
| vacas | 2.0 hrs. | caballos | 0.9 hrs. |
| cerdos | 1.3 hrs | | |

La concentración mínima efectiva de cloranfenicol en la sangre es de 5 mg/ml y es alcanzada en cada especie a una dosis total, repartida en 3 ó 4 administraciones al día (5,15).

- caballos de 25 a 50 mg/kg
- gatos de 20 a 50 mg/kg
- perros de 25 a 50 mg/kg
- cerdos de 50 mg/kg

Cuando se administra cloranfenicol por vía oral a rumiantes, la flora intestinal lo destruye, por lo que se administra parenteralmente a razón de 50 mg/kg cada 9 horas (5).

El cloranfenicol es inactivado en el hígado por la enzima glucuroniltransferasa y el producto conjugado con el ácido glucurónico, se excreta por la gilis como amina aromática y principalmente por vía renal (de 70 a 90% en 24 hrs). Del 5 al 10% del antibiótico no se inactiva y es eliminado por filtración glomerular. Cuando el cloranfenicol se administra por vía endovenosa, es eliminado de 4 a 6 hrs.

1.1.3. Usos

El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro, - efectivo contra rickettsias y mycoplasmas.

Se le ha utilizado en la mayoría de las infecciones del - tracto digestivo y en algunas infecciones del tracto respirato

rio, especialmente en neumonías atípicas como la causada por Klebsiella pneumoniae, otras infecciones producidas por Gram negativos, el cloranfenicol se recomienda también para pacientes con hipersensibilidad a las penicilinas. Se ha usado con éxito en infecciones urinarias multibacterianas (17).

Por su capacidad para pasar al sistema nervioso central y líquido cerebroespinal, se le puede usar en el tratamiento de infecciones a este nivel. Es el antibiótico de elección para aplicación tópica en colirios y soluciones óticas (11, 17).

1.1.4. Resistencia

Los grupos del cloranfenicol vulnerables a resistencia son: el segundo grupo hidróxilo, la cadena diclor-acetilo y el grupo nitro que se reduce a amino. Varios bacilos Gram-, algunos *Staphilococcus aureus*, y por lo menos una especie de *Streptomices* (*S. coelicolor*) son capaces de modificar la molécula - (5, 12, 24). Las rickettsias no presentan ningún tipo de resistencia. Además, se ha reportado que entre bacterias aún cuando no sean del mismo género, pueden transferirse al factor "R" y lograr resistencia al cloranfenicol. (15)

1.1.5. Toxicidad

Su toxicidad es baja en animales domésticos, se debe principalmente a una susceptibilidad individual, causada quizás por

conjugación deficiente con el ácido glucurónico.

El medicamento inhibe la absorción de Fe^{++} por los normoblastos y en grado mayor inhibe la incorporación de este ión a la fracción Hem; por tanto, baja el nivel de hemoglobina y sube el nivel de hierro en el plasma (11).

El uso prolongado de cloranfenicol puede provocar infecciones causadas por la flora natural, tales como candidiasis bucofaringeas, enteritis estafilicóccicas agudas, etc. Además puede suprimir la síntesis de anticuerpos por la inhibición de la síntesis de proteínas. Dosis orales altas pueden disminuir las concentraciones de protrombinas en la sangre y de urobilinógeno en la orina (11, 15, 17, 20).

En ratones adultos la DL50% es de 109.5 a 202.6 mg/kg por vía Intravenosa (IV) y de 1320.0 mg/kg por vía intraperitoneal (IP). La DL50% en perros por vía IV es de 150 mg/kg (17), manifestándose con alteraciones respiratorias, baja de la presión sanguínea, anorexia y la muerte en algunas horas.

En perros, se ha reportado que la administración de cloranfenicol no produce alteraciones en los componentes sanguíneos, pero a dosis altas puede causar depresión de la médula ósea (17,25).

En gatos, la medicación crónica con cloranfenicol causó vacuolización de las células mieloideas y linfocitos y una reducción en la maduración mieloide (18, 22, 25, 26).

1.1.6. Interacción de cloranfenicol con otros fármacos

En el Cuadro I se presentan las interacciones del cloranfenicol conocidas a la fecha:

CUADRO 1

INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS DEL CLORANFENICOL
CON DIFERENTES FARMACOS

| FARMACO | TIPO DE INTERACCION CON CLORANFENICOL |
|--|---|
| Penicilina | Inhibe el efecto bactericida de la penicilina (11) |
| Dicumarol Polimixina B Tetraciclina Bacitracina Difenildantoin | Precipitan in vitro. (16) |
| Ciclofosfamidás | Inhibe el efecto antineoplástico (17) |
| Hexobarbital Tilazol Pentobarbital Acetamilide Aminopirina Codeína Tolbutane | Estos son potencializados (1, 11, 18) |
| Sulfametoxipiridazina | Causan daño hepático (16) |

CUADRO 1

INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS DEL CLORANFENICOL
CON DIFERENTES FARMACOS

continuación

| FARMACO | TIPO DE INTERACCION CON CLORANFENICOL |
|--|---|
| Benzil Alcohol Dimenhidrate Eritromicina Heparina Hidrocortisona Novobiosina Paradehíde Procaína Fenotiacinas Sulfadiacinas Vancomicina Trifenilamina | Incompatibilidad con soluciones acuosas de cloranfenicol sodio succinato. |
| | (16) |
| Extracto seco de Belladona | Retarda la absorción y pico de cloranfenicol en sangre. |
| | (16) |
| Extracto de Belladona sin desecar Lactado de Calcio Kaolin Pectina Hidróxido de aluminio | Aceleran la absorción y aumentan el pico de cloranfenicol en sangre (16). |

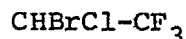
1.2. HALOTANO

Este anestésico fué sintetizado en 1951 por Suckling (11), más tarde Raventos (11), describió su acción en animales y en 1956, Johnstone reportó su uso como anestésico en humanos (19).

El halotano es uno de los anestésicos volátiles más usados

en la actualidad, en virtud de las ventajas que posee. No es inflamable ni causa irritación del tracto respiratorio, presenta una inducción y recuperación rápida y no es cardiotoxico (8, - 11, 19).

Su estructura química es:



Es un líquido claro, con gravedad específica de 1.86 y con un punto de ebullición de 50.2°C. Para aumentar su estabilidad se le añade 0.01% de timol. El halotano es un compuesto con sabor dulce que no irrita la mucosa y con olor agradable.

Su coeficiente de participación en sangre/gas de 2.3 a - 37°C en perros y en hombre, lo que resulta en estabilidad alveolar y arterial adecuada, aunque por su elevada solubilidad en las grasas tiende a acumularse en este tejido.

1.2.1. Usos y efectos

Unicamente se utiliza como anestésico en la mayoría de las especies. Bajo los efectos de éste, hay miosis, la respiración es superficial y rápida. Con este anestésico se presenta baja - incidencia de vómitos y náuseas pos-operatorias.

Produce depresión directa sobre el sistema nervioso simpático y la formación reticular activante. Deprime la respiración haciéndose más patente este efecto al profundizarse la anestesia.

Sin embargo, induce dilatación bronquial. El halotano inhibe notablemente los reflejos laríngeo y faríngeo, relaja los maseteros y abate la secreción de saliva. Se le administra en concentraciones de 2 a 6% para inducción y de .8 a 1.2% para mantenimiento de la anestesia (4).

El halotano tiene un efecto depresor directo sobre el miocardio y el músculo liso vascular. Además, abate la actividad del sistema nervioso simpático e impide que la noradrenalina - que se traducen en hipotensiones sanguíneas hasta de 30% (7, - 8, 18). Esto quizá se deba en parte al efecto directo depresor del miocardio-dosis-dependiente. Hay un incremento en la actividad parasimpática que se traduce en disminución de la frecuencia cardíaca. Las arritmias son escasas, a menos que exista hipoxia o se administren catecoláminas sobre todo durante la inducción (11). La vasodilatación que produce el halotano provoca aumento en la irrigación cerebral, cutánea y esquelética. Sin embargo, el resultado final es una disminución del sangrado y un bloqueo parcial de reacciones edematosas. La relajación muscular no es tan marcada como con el éter.

Por otro lado, el halotano inhibe la motilidad del yeyuno, colon y estómago en perros; incluso bloquea la peristalsis inducida por la neostigmina (11). Asimismo, inhibe el tono del miometrio, lo que en humanos provoca un sangrado seguido del desprendimiento de la placenta, esto no se ha reportado en perros (8).

Aunque existe controversia en la literatura, parece ser que el halotano puede inducir hepatitis pos-operatoria en humanos (8, 11).

1.2.2. Metabolismo y excreción

En el epitelio pulmonar se lleva a cabo la absorción y casi toda la excreción del halotano. De un 12 a un 20% se bio - transforma, siendo el ácido trifluoracético y el bromo los metabolitos detectados en la orina.

1.2.3. Toxicidad

En humanos, se ha detectado que el halotano induce en un porcentaje extremadamente bajo un estado comatoso asociado a necrosis hepática y daño renal. En cerdos Landrace, de un 10 a un 25% de los animales presentan un síndrome similar, que se denomina hipertermia maligna. Aún no se conocen las causas de esta susceptibilidad (8, 11).

2. Hipótesis:

La administración de cloranfenicol a ratones y a perros anestesiados con halotano, produce un aumento en la toxicidad aguda del antibiótico.

3. OBJETIVOS

3.1. Evaluar si los ratones anestesiados con halotano son más sensibles a los efectos tóxicos agudos del cloranfenicol succinato, administrado por vía intraperitoneal, estableciendo para ello dos curvas comparativas de logaritmo-dosis-respuesta-letal.

3.2. Evaluar los posibles efectos de la administración de cloranfenicol-halotano sobre la frecuencia y amplitud respiratorias, frecuencia y actividad eléctrica-cardíaca y presión arterial central en perros.

4. MATERIAL Y METODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. Fármacos

Cloranfenicol Sal Succinato; Cloromicetin. (De los laboratorios Parke Davis.)

Halotano, (De los laboratorios ICI)

Tiopental Sódico; Pentotal, (De los laboratorios Abbott)

4.1.2. Biológico

140 ratones (100 ♀, 40 ♂) albinos Suizos de 28-36 g. de peso.

8 perros (4 ♀, 4 ♂) de dos años aproximadamente, clínicamente sanos.

4.1.3. Aparatos de Medición

Un fisiógrafo MK-IV marca Narco Bio-Systems de cinco canales.

Un electrocardiógrafo Hewlett Packard, modelo 1511 B.

Dos transductores de presión, tipo Myograph F-60, marca Narco Bio-Systems.

Un pneumógrafo de impedancia, modelo 7212

Conexiones de tubo de plástico rígido con válvulas.

4.2. METODOS

4.2.1. Se formaron 14 grupos de 10 ratones c/u. A 7 de estos grupos se les administraron I.P. dosis crecientes de cloranfenicol. Se registró el porcentaje de ratones muertos y se calculo en una curva de logaritmo-dosis-respuesta, para establecer las dosis letales (DL) 25%, 50% y 100%. Además, se utilizaron los resultados para obtener los valores de DL en papel logaritmo-probabilidad de acuerdo con el método de Litchfield y Wilcoxon (14).

Una vez establecidas las curvas de letalidad, se procedió de la misma manera para encontrar las DL 25%, 50% y 100%, pero esta vez en animales anestesiados con halotano. Los valores de ambas curvas se compararon empleándose el análisis Logit (1) - estadísticamente para evaluar si existía una diferencia significativa entre los dos grupos (con y sin halotano). Para establecer las curvas se utilizó el análisis Probit (9).

Con el propósito de comparar la toxicidad del cloranfenicol con la del mismo, combinado con el halotano, se recurrió al método Logit, el cual se basa en la función logística:

$$(P=1-Q=\frac{1}{1+e^{-a+bx}}) \text{ que transformándola a Logit se resume como}$$

$$P = \text{Ln} (P/Q) = a+bx.$$

Donde: a es la intersección de la recta ajustada; b es la pendiente, x es el logaritmo natural (Ln) de la dosis. Todo esto de acuerdo a lo propuesto por Berkson (1) para la comprobación de dos farmacos, realizando el cálculo iterativo que se sugiere para aprovechar lo mejor posible la información de las dosis con 0 y 100% de respuesta observada.

Tanto en el análisis Probit como en el Logit, los cálculos se realizaron con las dosis transformadas mediante logaritmo natural (Ln).

4.2.2. En los 8 perros, se siguió la siguiente secuencia:

- Inducción con 20 mg/kg de tiopental sódico
- Colocación y fijación del perro en posición dorso-ventral
- Mantenimiento en el plano III de anestesia con halotano

por período de una hora

- Se realizó la disección de la arteria carótida primitiva izquierda, introduciendo una cánula de 10 a 15 cms., contracorriente. Se conectó la cánula al transductor de presión, para medir la presión arterial.
- Se aisló la vena femoral de triángulo de Scarpa para la aplicación de solución salina fisiológica por venoclisis, lo que permitió una vía de aplicación para el cloranfenicol.
- Se colocaron dos electrodos de agujas subcutáneas para el registro de la frecuencia y amplitud respiratorias en el fisiógrafo.
- Se colocaron los cinco electrodos del electrocardiograma en los miembros correspondientes y en el 4o. espacio intercostal, para obtener un electrocardiograma en la función primera precondrial.
- Después de la calibración del fisiógrafo, se inicio el experimento, obteniéndose primero el registro basal de la frecuencia respiratoria, el electrocardiograma y la presión arterial.
- Después de 10 registros basales de frecuencia respiratoria (FR), frecuencia cardíaca (FC) y presión arterial (PA) en un período de una hora, se procedió a la aplicación de una dosis de 50 mg/kg., de cloranfenicol a 4 de los 8 perros, y 150 mg/kg., a los restantes. Siendo la primera dosis terapéutica y las otras dos dosis letales (12).

- Nuevamente se tomaron 10 registros de FR, FC y PA, para detectar si éstos son afectados con la administración del antibiótico.

Las medidas de los registros basales antes y después de la administración del cloranfenicol se compararon, utilizando para este propósito la prueba T^2 de Hotteling.

R E S U L T A D O S

I PRIMERA PARTE

EXPERIMENTO CON RATONES

Para estimar la DL50% de cloranfenicol y de cloranfenicol más halotano, se trabajó con 140 ratones haciéndose dos curvas de dosis respuesta, ocupando 70 ratones para cada relación. - Los resultados se enlistan en el Cuadro 2 y Figuras 1 y 2, estas gráficas muestran las formas sigmoides típicas de las relaciones dosis respuesta, se empleó el análisis Probit (Probability unit) (10) para calcularlas se uso el paquete "Statistical Analisis System (SAS)".

En ambos casos la prueba de ji cuadrada nos indica que el ajuste de la curva calculada es adecuado.

Los cuadros 4 y 5 muestran las DL del 1% al 99% con sus respectivos intervalos de confianza al 95%. En ellos se puede notar que las DL50% para los animales tratados con cloranfenicol fue de 1667.9 mg/kg. con límites de 1417.8 y 1878.8 mg/kg al 95% de confianza, mientras que la dosis letal 50% en animales previamente anestesiados con halotano fue de 1098.49 mg/kg con límites de 796.63 y 1375.25 mg/kg, lo que arroja una diferencia de 569.41 mg/kg.

Los datos primarios se graficaron en papel logaritmo-probabilidad de acuerdo al método de Litchfield y Wilcoxon y se -

obtuvo una dosis letal 50% para cloranfenicol de 1600 mg/kg, mientras que para los animales previamente anestesiados fue de 1047 mg/kg (cuadro 3). Las curvas de las dosis respuesta con dicho método se presentan en la figura 3.

El resultado del análisis Logit, indica que al combinarse con halotano la potencia tóxica del cloranfenicol aumenta un $72.15\% \pm 1.94\%$, dando un intervalo de confianza al 95% de 68.35 a 75.94% y al 99% de 67.16 a 77.14% .

La prueba de ji cuadrada para este análisis indica que se cumple razonablemente con las suposiciones implícitas en el modelo,

(ji cuadrada $c=5.5045$ con 6 grados de libertad)

II SEGUNDA PARTE

EXPERIMENTO CON PERROS

Posteriormente se evaluaron los efectos de dosis terapéuticas máximas de cloranfenicol en 4 perros (50 mg/kg) (12) y - DL 50% de cloranfenicol (150 mg/kg) (17) en los 4 perros restantes, como ya se indicó, todos los perros estuvieron bajo el efecto del anestésico al momento de la aplicación del antibiótico.

Se registraron presión sistólica (PS), presión diastólica (PD), frecuencia respiratoria (FR) y frecuencia cardíaca (FC), llevándose a cabo un total de 20 registros para cada una de las constantes fisiológicas mencionadas en cada uno de los perros; 10 medidas con el animal anestesiado y los otros 10 bajo los efectos del anestésico aunados a los del antibiótico. Los resultados promedios obtenidos se enlistan en el cuadro 6.

Al analizar estos resultados con una prueba T^2 de Hotelling se detectó que no hubo cambios significativos en los valores ($P < 0.05$). El resultado de la prueba de T^2 de Hotelling se muestra en el cuadro 7 así como también los valores de la matriz de covarianza. El valor de T^2 fue igual a 3.66 que por ser menor a la F tabulada para 0.05 de posibilidad no resulta significativa.

CUADRO 2

MORTALIDAD ENCONTRADA CON LAS DIFERENTES DOSIS EMPLEADAS DE CLORANFENICOL SOLO Y CLORANFENICOL MAS LA INFLUENCIA DEL HALOTANO.

| DOSIS mg/kg | NUMERO DE RATONES | CLORANFENICOL SOLO No. DE MUERTOS | CLORANFENICOL + HALOTANO No. DE MUERTOS |
|----------------|-------------------------|---|---|
| 330 | 10 | 0 | 0 |
| 660 | 10 | 0 | 3 |
| 1320 | 10 | 1 | 6 |
| 1650 | 10 | 6 | 7 |
| 2000 | 10 | 8 | 7 |
| 2640 | 10 | 9 | 10 |
| 3000 | 10 | 10 | 10 |

ANALISIS PROBIT EN LOG(DOSIS)
 TOXICIDAD DEL CLORANFENICOL SUCCINATO EN RATONES

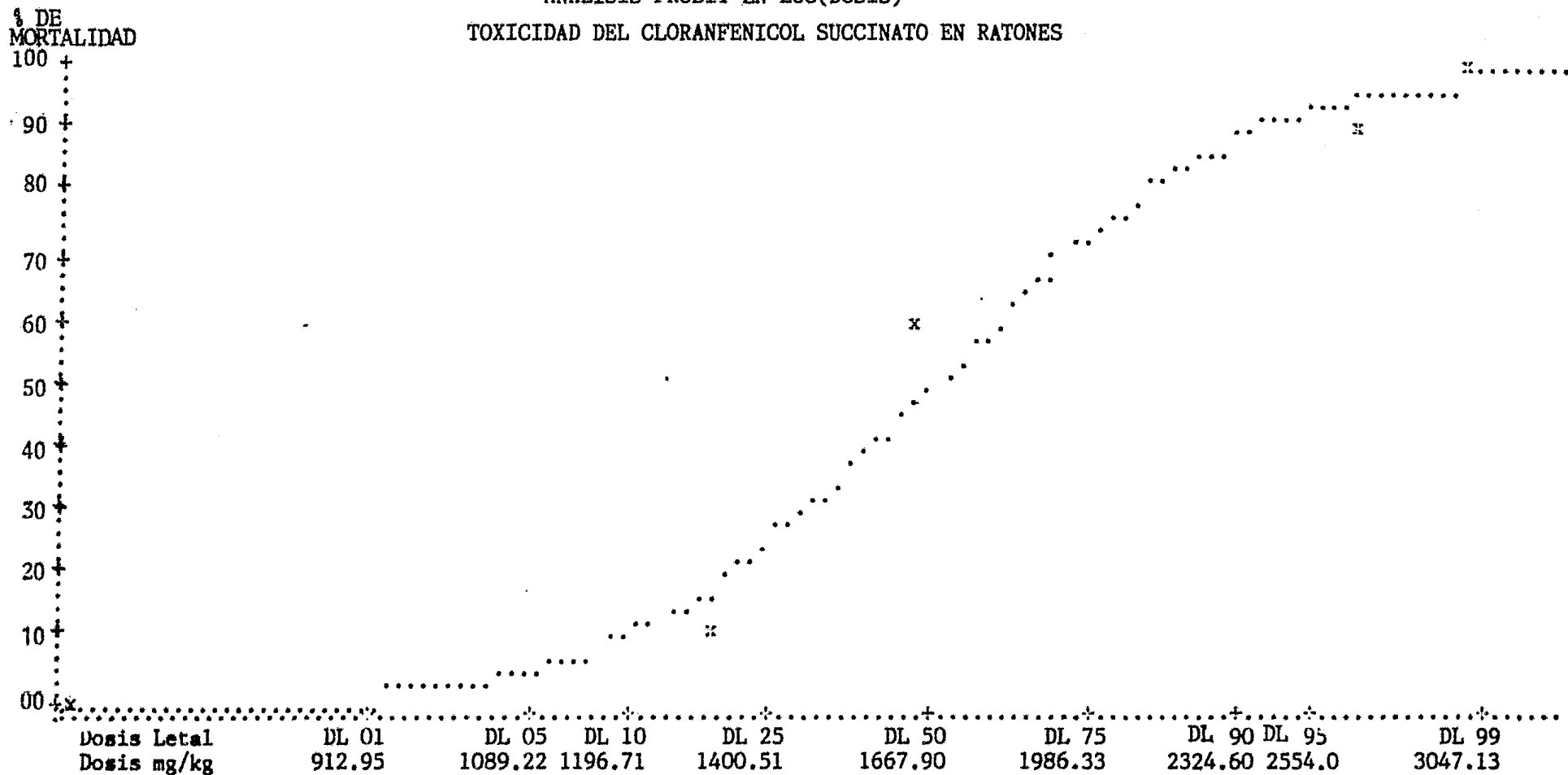


FIGURA 1 : Curva ajustada para los logaritmos naturales (dosis) letales, las "x" indican la posición de los datos usados. El eje x da los Ln(DOSIS) y el y la probabilidad de que cause la muerte.

ANALISIS PROBIT EN LOG(DOSIS)
 TOXICIDAD DEL CLORANFENICOL SUCCINATO BAJO LA
 INFLUENCIA DEL HALOTANO EN RATONES

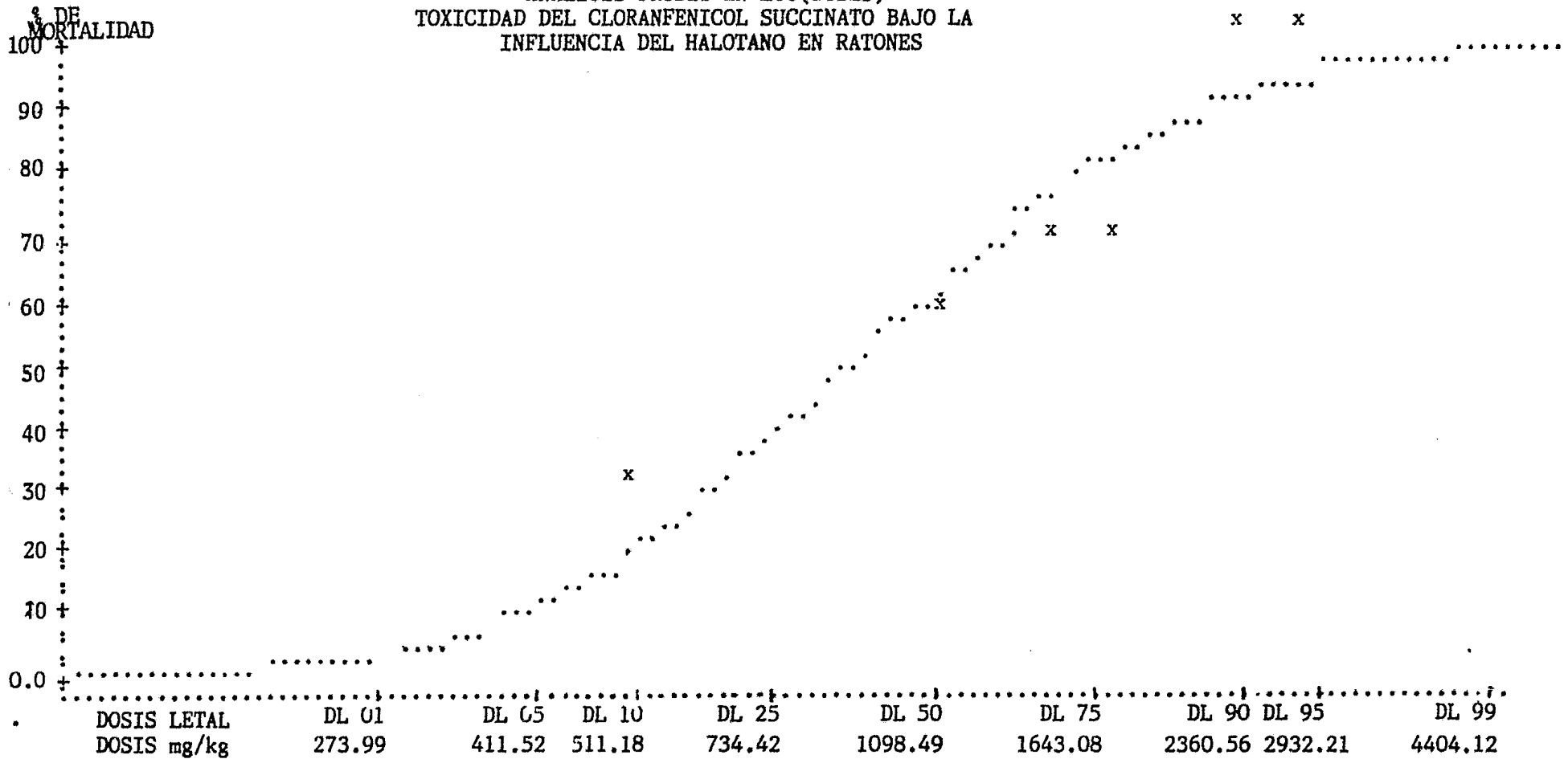


FIGURA 2: Curva ajustada para los logaritmos naturales (dosis) letales, las "x" indican la posición de los datos usados. El eje x da los Ln(DOSIS) y el y la probabilidad de que cause la muerte.

CUADRO 3

RESULTADOS OBTENIDOS SEGUN EL METODO DE LITCHFIELD Y WILCOXON

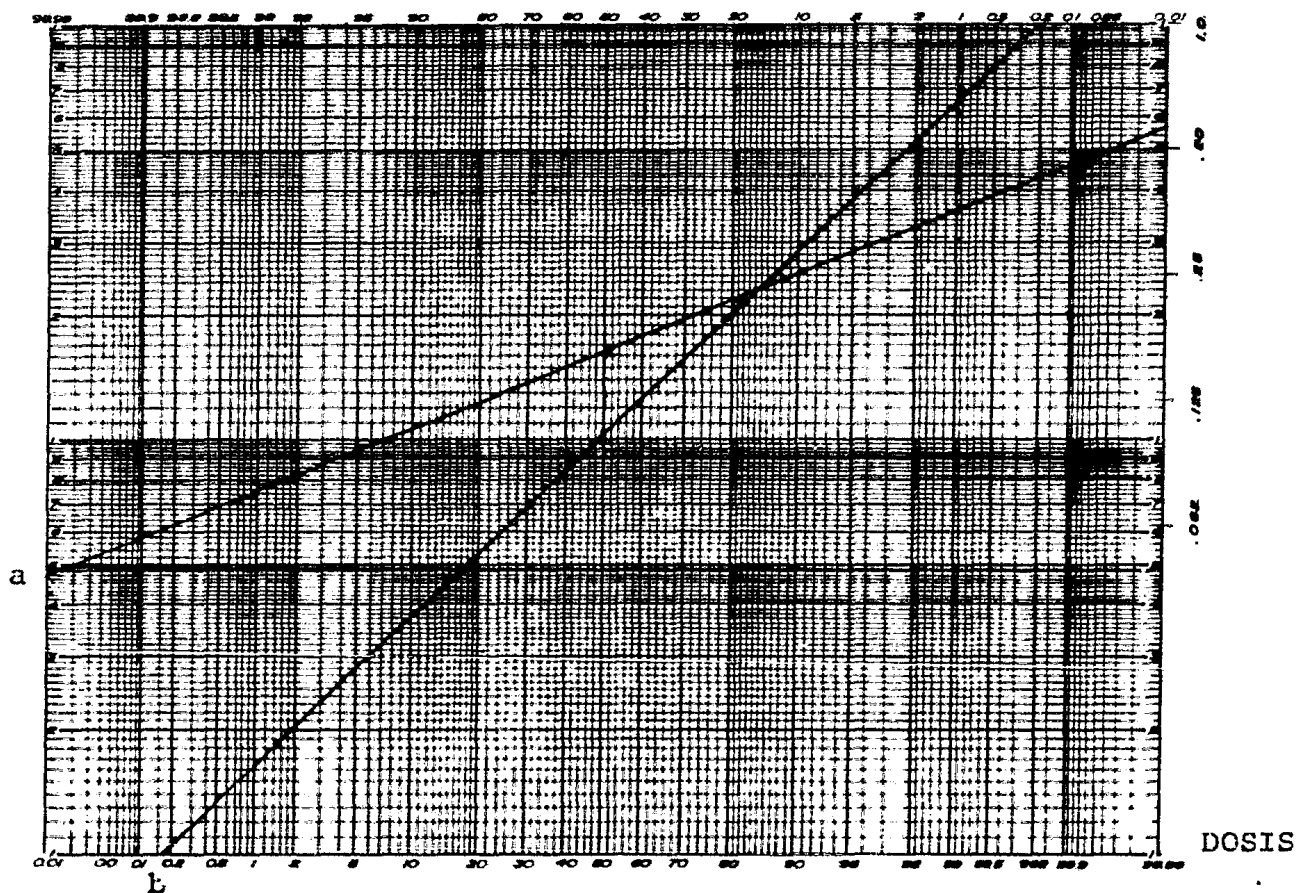
| CLORANFENICOL + HALOTANO | | CLORANFENICOL SOLO | |
|--------------------------|------|--------------------|------|
| D ₁₆ | 480 | D ₁₆ | 1120 |
| D ₅₀ | 1047 | D ₅₀ | 1600 |
| D ₈₄ | 2200 | D ₈₄ | 2250 |
| Total | 60 | Total | 60 |

CUADRO 3.- Resultados comparativos de cloranfenicol solo y cloranfenicol más halotano según el método de Litchfield y - Wilcoxon el cual se ilustra en la figura 4.

FIGURA 3

%

MORTALIDAD



La figura No. 3, muestra las rectas de la relación dosis respuesta letal para el cloranfenicol en ratones, en presencia (a) y (b) en ausencia de halotano, obtenidos por el método de Litchfield y Wilcoxon.

CUADRO 4
 DOSIS LETALES EN UN RANGO DE 1% a 99% CON
 SUS RESPECTIVOS INTERVALOS DE CONFIANZA AL 95%

| % MORTALIDAD | DOSIS | LIMITE BAJO | LIMITE ALTO |
|--------------|---------|-------------|-------------|
| 0.01 | 912.95 | 469.71 | 1161.61 |
| 0.02 | 979.75 | 538.22 | 1220.74 |
| 0.03 | 1024.64 | 586.62 | 1260.14 |
| 0.04 | 1059.77 | 625.77 | 1290.85 |
| 0.05 | 1089.22 | 659.45 | 1316.54 |
| 0.06 | 1114.94 | 689.47 | 1338.96 |
| 0.07 | 1137.99 | 716.84 | 1359.05 |
| 0.08 | 1159.03 | 742.22 | 1377.41 |
| 0.09 | 1178.50 | 766.02 | 1394.42 |
| 0.10 | 1196.71 | 788.54 | 1410.35 |
| 0.15 | 1275.17 | 888.34 | 1479.55 |
| 0.20 | 1341.17 | 975.36 | 1538.90 |
| 0.25 | 1400.51 | 1055.44 | 1593.72 |
| 0.30 | 1456.04 | 1131.42 | 1646.83 |
| 0.35 | 1509.45 | 1204.88 | 1700.19 |
| 0.40 | 1561.95 | 1276.76 | 1755.48 |
| 0.45 | 1614.48 | 1347.63 | 1814.38 |
| 0.50 | 1667.90 | 1417.80 | 1878.80 |
| 0.55 | 1723.08 | 1487.45 | 1950.96 |
| 0.60 | 1781.03 | 1556.72 | 2033.65 |
| 0.65 | 1842.97 | 1625.93 | 2130.34 |
| 0.70 | 1910.58 | 1695.79 | 2245.67 |
| 0.75 | 1986.33 | 1767.70 | 2386.36 |
| 0.80 | 2074.22 | 1844.23 | 2563.32 |
| 0.85 | 2181.58 | 1930.09 | 2797.07 |
| 0.90 | 2324.60 | 2035.42 | 3134.60 |
| 0.95 | 2554.00 | 2190.71 | 3730.60 |
| 0.99 | 3047.13 | 2493.41 | 5215.19 |

Este cuadro muestra las diferentes dosis letales del Cloranfenicol y sus intervalos de confianza presentados en ratones, - calculados mediante análisis Probit.

CUADRO 5

DOSIS LETALES EN UN RANGO DE 1% A 99% CON
SUS RESPECTIVOS INTERVALOS DE CONFIANZA AL 95%

| MORTALIDAD | DOSIS | LIMITE BAJO | LIMITE ALTO |
|------------|---------|-------------|-------------|
| 0.01 | 273.99 | 83.94 | 457.04 |
| 0.02 | 322.40 | 110.38 | 514.78 |
| 0.03 | 357.46 | 131.27 | 555.38 |
| 0.04 | 386.33 | 149.50 | 588.19 |
| 0.05 | 411.52 | 166.15 | 616.43 |
| 0.06 | 434.26 | 181.74 | 641.64 |
| 0.07 | 455.22 | 196.59 | 664.69 |
| 0.08 | 474.85 | 210.88 | 686.12 |
| 0.09 | 493.43 | 224.75 | 706.28 |
| 0.10 | 511.18 | 238.30 | 725.44 |
| 0.15 | 591.72 | 303.25 | 811.52 |
| 0.20 | 664.69 | 366.58 | 988.86 |
| 0.25 | 734.42 | 430.55 | 962.86 |
| 0.30 | 803.26 | 496.47 | 1036.60 |
| 0.35 | 872.79 | 565.29 | 1112.38 |
| 0.40 | 944.32 | 637.81 | 1192.40 |
| 0.45 | 1019.11 | 714.70 | 1279.03 |
| 0.50 | 1098.49 | 796.63 | 1375.25 |
| 0.55 | 1184.05 | 884.22 | 1484.93 |
| 0.60 | 1277.82 | 978.17 | 1613.43 |
| 0.65 | 1382.56 | 1079.39 | 1768.35 |
| 0.70 | 1502.23 | 1189.36 | 1960.93 |
| 0.75 | 1643.03 | 1310.81 | 2208.88 |
| 0.80 | 1815.39 | 1449.05 | 2542.06 |
| 0.85 | 2039.26 | 1614.91 | 3020.11 |
| 0.90 | 2360.56 | 1833.61 | 3786.54 |
| 0.95 | 2932.21 | 2186.97 | 5358.44 |
| 0.99 | 4404.12 | 2985.44 | 10478.70 |

Este cuadro muestra las diferentes dosis letales de clo - ranfenicol y sus respectivos intervalos de confianza presentados bajo los efectos del anestésico halotano en ratones, calculados mediante análisis Probit.

CUADRO 6

PROMEDIOS DE 10 MEDIDAS ANTES MENOS EL PROMEDIO DE 10 REGIS -
TROS DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE CLORANFENICOL EN PERROS

| PERRO No. | DOSIS DE CLORANFE NICOL | PRESION DIASTO- LICA | PRESION SISTOLI CA | FRECUENCIA CARDIACA | FRECUENCIA RESPIRATO RIA |
|--------------|-------------------------------|----------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------------|
| 1 | 50mg/Kg | 18.3 | 15.46 | -2.6 | - 9.5 |
| 2 | 50mg/Kg | 20.1 | 11.25 | 16.8 | 4.8 |
| 3 | 50mg/Kg | -16.5 | -28.5 | -26.8 | 8.7 |
| 4 | 50mg/Kg | 16.75 | 11.0 | 2.4 | - 7.2 |
| 5 | 150mg/Kg | 3.0 | - 4.22 | 22.8 | 0.3 |
| 6 | 150mg/Kg | 8.7 | 5.0 | 17.7 | - 6.3 |
| 7 | 150mg/Kg | -14.2 | -2.5 | - 5.0 | -15.0 |
| 8 | 150mg/Kg | - 7.2 | -3.6 | - 7.5 | -24.6 |
| X | | 3.61875 | 0.47875 | 2.225 | - 6.1 |

CUADRO 7

MATRIZ DE COVARIANZA

PRUEBA T^2 DE HOTTELING REALIZADA PARA EL CAMBIO EN LAS CONSTANTES FISIOLÓGICAS EN LOS PERROS.

| PRESION DIASTOLICA (PD) | PRESIOS SISTOLICA (PS) | FRECUENCIA CARDIACA (FC) | FRECUENCIA RESPIRATORIA (FR) |
|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------------|
| 218.2021 | 177.4483 | 150.9445 | 24.5314 |
| 117.4483 | 194.217 | 137.2712 | -43.3401 |
| 150.9445 | 137.2712 | 269.6821 | 16.9014 |
| 24.5314 | =43.3401 | 16.9014 | 116.1543 |

La T^2 obtenida es menor que la T^2 tabular, por lo tanto los cambios no fueron significativos según este método.

Con base en los resultados obtenidos por las curvas de dosis respuesta en ratones y dado al análisis estadístico realizado sugiere que existe una potencialización de 72% del efecto tóxico agudo del cloranfenicol por el halotano (Figuras 1, 2 y 3). El aumento del efecto letal aumentado no está relacionado a los conocidos efectos de inhibición del sistema microsomal enzimático reportados para el cloranfenicol, ya que requiere un mínimo de 6 horas para que estos se manifiesten (11). Además, se conoce que la principal forma de eliminación del halotano es a través de las vías pulmonares y no por biotransformación (15); con lo que se elimina la posibilidad de una interacción a nivel hepático.

La sintomatología observada en los ratones que murieron, indica una marcada depresión del sistema nervioso central, aunque definitivamente hubo paros respiratorios o dificultades respiratorias que se tradujeron en cianosis. Siendo la mortalidad mayor pero igual en los ratones que estuvieron bajo el efecto del halotano*

La DL50% para cloranfenicol (1668 mg/kg) resultó mayor que la reportada por la literatura (1320 mg/Kg) (12). Sin embargo, la diferencia fue solamente de 348 mg/kg lo que puede

* Este diseño nos revela que los efectos mostrados, la sintomatología presentada se debe al cloranfenicol y que son potencializados en presencia del halotano.

deberse a las diferentes marcas productoras de cloranfenicol - usadas en ambos experimentos, así como a la cepa de ratones - usados.

Por otro lado, en el experimento realizado con los perros ni las dosis terapéuticas máximas, ni las dosis letales 50% reportadas (50mg/Kg y 150mg/Kg respectivamente) fueron capaces - de causar la muerte a ninguno de los 8 individuos sujetos a la administración conjunta de cloranfenicol y halotano. Más aún, tampoco pudieron inducir cambios significativos en las constantes evaluadas (cuadro 6). Por lo tanto, la hipótesis planteada como objetivo de esta tesis es parcialmente cierta, puesto que el halotano aumenta la letalidad aguda del cloranfenicol en ratones, aunque en perros no pudo siquiera demostrarse la inducción de cambios en las constantes medidas. Estudios similares (6) utilizaron un número experimental de 8 animales, por lo - que se consideró en el presente trabajo que 8 sujetos serían suficientes para detectar cambios en presión sistólica (PS), - presión diastólica (PD), frecuencia respiratoria (FR) y frecuencia cardíaca (FC). Además, el estudio estadístico para determinar el tamaño de la muestra (Prueba del error muestra (13) indicó como número adecuado mínimo el de 8 perros.

Por otro lado, el hecho de que no se hayan presentado cambios significativos en PS, PD, FR y FC en los 8 perros estudiados, no excluye la posibilidad que en un porcentaje mínimo de

población canina, se presenten respuestas paradójicas letales, como se ha observado en algunos casos clínicos (*) (**)

Para corroborar esta última observación, es necesario recurrir a los registros clínicos de médicos veterinarios. La presentación de respuestas paradójicas letales es un fenómeno que se presenta incluso con medicamentos considerados inocivos a dosis terapéuticas, por ejemplo se han reportado respuestas fatales a la xilazina en caballos (10), al halotano en humanos (12). Por ello, no sería extraordinario el encontrar en la combinación del cloranfenicol y el halotano un efecto similar en perros e incluso en otras especies domésticas.

Así pues, parece pertinente el sugerir que es necesario un estudio basado en una muestra mayor, para averiguar si existe o no un porcentaje fijo de respuestas fatales a la acción conjunta de cloranfenicol y halotano en animales clínicamente sanos.

(*) CASTRO, I.: Clínica de Pequeñas Especies de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Comunicación Verbal de Casos Clínicos. (1982).

(**) VALDEZ, J.: Clínica de Equinos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Comunicación Verbal de Casos Clínicos. (1982).

C O N C L U S I O N E S

1. El halotano induce un aumento estadísticamente significativo del efecto tóxico agudo del cloranfenicol en ratones.
2. No se encontró un incremento del efecto tóxico agudo del cloranfenicol en presencia del halotano en perros aunque debe tenerse en cuenta que la muestra fue pequeña.
3. En función de la evidencia aquí obtenida, resultaría conveniente la elaboración de un estudio, basado en una muestra mayor, varias especies domésticas para detectar si existe un aumento de la letalidad del cloranfenicol en presencia del halotano.

BIBLIOGRAFIA

1. BERKSON, J.: A Statistically Precise and Relatively Simple Method of Estimating the Bio-Assay with Quantal Response, Based on the Logistic Function *Am, Stat. Ass. J*: 565-599 (1953).
2. BREE, M.M. and PERK, J.S.: Effects of Chloramphenicol on Tilazol (CI-774) Anesthesia in Cats. *Veterinary Medicine/Small Animal Clinician*. VI: 764 - 771 (1976).
3. BREE, M.M. and PERK, J.S.: Effects of Chloramphenicol on - Tilazol (CI-7744) Anesthesia in Dogs. *Veterinary Medicine/Small Animal Clinician*, IX: 1243 - 1246 (1976).
4. BOOTH, N.H. Anesthesia-Local and General. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Jones L.M. 4th - Iowa State University Press: 191-448 (1977).
5. CLARK, C.H. Chloramphenicol Dosage. *Modern Veterinary Practice*, X: 749-754 (1978)
6. CROCK, F.H. y NOWELL, J.W.: *Manual de Laboratorio de Química y Física*. Alhambra Madrid-México. (1961)
7. DAVIS, L.E. and NEFF, C.D.: Pharmacokinetics of Chloramphenicol in Domesticated Animals. *Am. J. Vet. Res.*, 33, (11): 2259-2265 (1972)
8. ECKENHFF, J.E.: *Controversy in Anesthesiology*. W.B. Saunders Company: 31-34, 133-134 (1979)

9. FINNEY, D.J.: Statistical Methods in Biological Assay
2ª Ed. Griffin Press, London (1971).
10. FUENTES. V. y SUMANO H.: "Farmacología Veterinaria", en
prensa. Ed. Pardsa, México (1983).
11. GOODMAN, L. y GILMAN, A.: Bases Farmacológicas de la terap
péutica, 5th. ed Nueva Edit. Interamericana,
S.A. de C.V.: 1002-1007 (1978).
12. GRANT, R.B. and DI NAMPRO, L.: Antrimicrobial Resistance
Plasmide in Salmonella from Ontario, Canada,
Can. J. Microbial., 23; 1266-1273 (1977).
13. HURLEY, D.P. y AGUILAR, M.: Técnicas Estadísticas para Ing
geniería, Ciencias Agropecuarias y Ciencias
Físicas. Centro de Investigaciones y Estudios
Avanzados, S.E.P.: 32-40 (1980).
14. LITCHFIELD, J. and WILCOXON, F.: A Similified Method of
Evaluating Dose-Effect Experiments. Stanford
Laboratories. American Cyanamid Company,
Stanford. Connecticut (1978).
15. MEYER, J.L. and BOOLH, N.: Veterinary Pharmacology and -
Therapeutics Fourth ed. Leslie E. Mac. Donald
The Iowa State University Press.: 946-949,
(1977).
16. MORELI, H.F. and MEIMO, L.K.: Drug Interactions in Clinic
cal, Mac-Millan Inc.: 585-605 (1982)
17. OSOL and PRATT.: The United States Dispensatory. J.B. Lip
ppincott Company, 27: 274-286 (1973)

18. SISODIA, C.S.: Pharmacotherapeutics of Chloramphenicol in Veterinary Medicine, JAVMA., 176 (10): -1069-1071 (1980).
19. SOMA, L.R. Textbook of Veterinary Anesthesia. Williams and Wilkins Company: 68-72 (1971).
20. SPINELLI, J.S. Farmacologia y Terapeutica Veterinaria, Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. 46-47 (1982).
21. STOKLEY: Mechanisms of Drug Interactions in the Pharmacokinetic Phase of Drug Activity. AM. J. Hosp Pharm. 27: 977-985 (1970).
22. TESK, R.H. and MERCER, H.D.: Subchronic Effects of Chloramphenicol on the Hemopoietic System of Cats. Vet. Jour., 17 (1): 19-23 (1976).
23. WATSON, A.D. and McDONALD. P.L.: Distribution of Chloramphenicol in Some Tissues and Extravascular Fluids of Dogs After Oral Administration. Am. J. Vet. Res., 31 (5); 557-559 (1976).
24. WATSON, A.D.: Effects of Concurrent Drug Therapy and Feeding on Plasma Chloramphenicol Levels After Oral Administration of Chloramphenicol in Dogs. Research in Veterinary Science, 22; 68-71 (1977).
25. WATSON, A.D.: Chloramphenicol Toxicity in Dogs. Research in Veterinary Science, 23: 66-69 (1977)
26. WATSON, A.D.: Further Observations on Chloramphenicol Toxicosis in Cats. Am. J. Vet. Res., 41 (2): 293-294 (1980).