

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

**INVESTIGACION DE NEOMICINA
EN TEJIDOS DE AVES DE CORRAL**

277

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

p r e s e n t a

MARTHA GUILLERMINA PEREZ PACHECO

1974



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.

CLAS. Tesis 258
ADQ. 1974
FECHA
PROC. 417 264



QUIMICA

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE
SEGUN EL TEMA.

PRESIDENTE NINFA GUERRERO DE CALLEJAS.
VOCAL Ma. DEL CONSUELO HIDALGO Y M.
SECRETARIO JUAN JOSE MANDOKI WEITZNER.
1er. SUPLENTE - ANDRES ZUÑIGA PADILLA. -
2do. SUPLENTE - RUBEN BERRA GARCIA COSS. -

SITIO DONDE SE DESARROLLA EL TEMA

PFIZER, S. A. DE C. V.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE MARTHA GUILLERMINA PEREZ PACHECO.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA MA. DEL CONSUELO HIDALGO Y M.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR TECNICO _____

A MIS PADRES.

MUCHAS GRACIAS.

A MIS HERMANOS.

I N D I C E

Pág.

INTRODUCCION .

ANTECEDENTES 1

GENERALIDADES 4

MATERIAL Y METODOS 25

RESULTADOS 40

CONCLUSIONES 45

BIBLIOGRAFIA 46

INTRODUCCION

Actualmente se ha generalizado el uso de antibióticos en la prevención y terapia de las enfermedades de tipo infeccioso en los animales domésticos.

Así como es importante la velocidad de absorción de un antibiótico en el organismo, también lo es la velocidad de eliminación.

Este trabajo está encaminado para llegar al conocimiento del tiempo que tarda en eliminarse la neomicina del tejido y vísceras de las aves de corral, cuando es administrada por vía subcutánea en forma de solución estéril.

Una vez que se haya llegado a este conocimiento, podrá establecerse el tiempo que debe transcurrir después de la administración del antibiótico para que el animal pueda ser sacrificado para fines de consumo humano.

Si este lapso de tiempo es muy prolongado, podrá llegarse a la conclusión que es inconveniente el uso de este antibiótico, administrado por vía parenteral.

Esto es de suma importancia, ya que el hecho de que

humanos consuman carne que tiene residuos o trazas de antibiótico, podría causar en ellos una hipersensibilidad u ocasionar que los microorganismos que constituyen su flora intestinal desarrollen una resistencia tal a este antibiótico que se hagan inmunes al mismo y como consecuencia este medicamento no servirá en terapia humana en casos de infecciones provocadas por esos microorganismos.

Además de la determinación de la neomicina residual a diferentes tiempos, después de su administración, es de interés investigar si la cocción de la carne destruye al antibiótico presente en la carne cruda. Ambas determinaciones antes y después de la cocción, deberán practicarse corriendo sus respectivos testigos, a fin de llegar a una conclusión verdadera.

Este trabajo fue desarrollado en los Laboratorios Pfizer S.A. de C.V. y agradezco a las personas que en una u otra forma colaboraron conmigo para llevar a cabo el presente estudio.

Asímismo agradezco los consejos y la orientación técnica que me prestó la maestra Q.F.B. Ma. del Consuelo Hidalgo M.

Presento a la consideración del jurado esta pequeña aportación esperando sea de alguna utilidad para las personas relacionadas con la Industria Farmacéutica y los Médicos Veterinarios Zootecnistas.

CAPITULO I

ANTECEDENTES.

El uso de antibióticos para el control de enfermedades de animales, tiene algunas veces uso paralelo en la terapia humana.

Los antibióticos también son efectivos como aditivos en alimentos, para promover un crecimiento rápido en los animales y mejorar el aprovechamiento de los mismos.

En los cerdos, por ejemplo, el crecimiento puede ser incrementado en un 10% y en los pollos, en un 6%.

En Inglaterra se estima que 168 toneladas de antibióticos fueron usadas para alimentos de animales, comparadas con 240 toneladas usadas para la terapia humana, en 1967.

Utilizar antibióticos de aplicación humana en animales, implica los siguientes riesgos:

A.- Que el medicamento se deposite y permanezca activo en carne, leche, huevos, los cuales al ser ingeridos puedan ser causa de efectos dañinos, tales como alergia y resistencias,

las cuales a su tiempo reducen la efectividad del antibiótico en épocas de crisis infecciosas.

B.- Aparición de cepas bacterianas resistentes al antibiótico, las cuales pueden ser transmitidas del animal al hombre.

Sin embargo, un comité gubernamental de Gran Bretaña, investigó este problema, en 1960 y concluyó que este peligro era insignificante comparado con la pérdida económica que se originaba si los antibióticos hubiesen sido suspendidos.

Afortunadamente, otro comité gubernamental, del mismo país, estableció en 1968, examinar este problema nuevamente con más argumentos científicos.

Encabezado por el Dr. Michael Swann, el comité publicó un informe un mes después, el cual iba encaminado a combinar claridad científica, con conocimiento de los factores económicos de vida.

En particular, el comité Swann advirtió el peligro de una resistencia al fármaco, transferible, la cual fue investigada en Japón en 1960.

Este fenómeno es confinado a las enterobacteriaceas, comprendiendo los géneros Salmonella, E. coli y Shigella, las cuales son responsables de una variedad de enfermedades epidémicas.

Algunos de estos microorganismos pueden adquirir resistencia a los antibióticos y, a su vez, transmitirla a otros por medio que no han sido bien aclarados.

La resistencia al antibiótico, puede ser extendida rápidamente entre diferentes cepas de un género, o entre diferentes géneros, en el caso de epidemias similares.

Consecuentemente, el uso prolongado de antibióticos puede ser causante de la permanencia de múltiples cepas resistentes.

Por ejemplo, la cepa de salmonella que infecta a los animales, puede transferir resistencia al antibiótico a cepas de salmonella que causan tifoideas en los humanos.

CAPITULO II

GENERALIDADES

NEOMICINA. PROPIEDADES FISICAS, QUIMICAS, FARMACOLOGICAS Y USOS.

HISTORIA.

El descubrimiento de la estreptomicina, en 1943, fue un largo paso ganado en la batalla contra las enfermedades infecciosas, porque en principio, el hombre tuvo disponible un agente quimioterápico con una capacidad inhibitoria muy efectiva, contra las bacterias Gram negativas y ácido resistentes.

Después se vió que la estreptomicina no era la última respuesta para el control de bacterias patógenas, ya que muchos de ellos fueron adquiriendo, rápidamente, resistencia a este antibiótico.

Entonces, los trabajos de muchos laboratorios fueron encaminados a encontrar un antibiótico efectivo contra las bacterias estreptomicina-resistentes, Gram negativas y ácido resistentes.

En 1949, Waksman y Lechevalier, descubrieron la neomicina, a la cual también se le dió el nombre de mycifradina y neurobiótico.

Dicho antibiótico fue descubierto en filtrados de un actinomicete designado como Streptomyces 3535 y más tarde identificado como Streptomyces fradiae. El cultivo fue aislado del suelo colectado en el corral del Colegio Agrícola del Estado de Nueva Jersey.

No solamente fue activo contra bacterias estreptomicina-resistentes, sino también resultó menos tóxica que ésta y además, tuvo menos tendencia a inducir cepas resistentes.

La neomicina es producida industrialmente por fermentación sumergida y subsecuentemente recuperado el antibiótico activo.

DESCRIPCION Y PROPIEDADES FISICAS.

La neomicina como sulfato, se presenta en forma de un polvo o cristales blancos o ligeramente amarillentos, inodoros e higroscópicos. Sus soluciones son dextrorrotatorias.

Un gramo de sulfato de neomicina se disuelve en cerca de un mililitro de agua, es ligeramente soluble en alcohol e insoluble en acetona, cloroformo y éter.

En medio alcalino su actividad es mayor. Es termoes- table y conserva su actividad en todos los vehículos, peculiaridad que tiene gran interés práctico.

CARACTERISTICAS QUIMICAS.

Junto con la kanamicina, paronomicina y aminosidina, constituye el grupo de antibióticos oligo-amino-sacáridos.

Químicamente es un complejo que consiste, por lo menos en cuatro componentes íntimamente relacionados, los cuales fueron asignados como fracción A, B, C y fradycin. A la fracción A se le ha asignado el nombre de neamina.

El fradycin ($C_{30}H_{34}N_4O_3$) tiene propiedades fungicidas, pero no antibacterianas y no se encuentra en la neomicina pura. Es también elaborado por *S. fradiae*.

La estructura química de los componentes de la neomicina no está completamente definida, pero su identificación general si es conocida.

El primer trabajo de separación de algunas fracciones fue desarrollado por Swant, Peck, Regna y Murphy.

El trabajo químico sobre el fraccionamiento de la neomicina y su identificación, fue revisado por Waksman.

Swant, en base a la distribución obtenida de unos estudios hechos con unos aparatos de contracorriente Craig, sugirió que no hay tal entidad como neomicina B, que en realidad es el complejo neomicina carente de neomicina A.

Hamre describió unos medios de diferenciación de las fracciones de neomicina en base a ensayos biológicos comparativos, en caldo y sobre placas de agar inoculadas, usando *Klebsiella pneumoniae* y *B. subtilis* como microorganismos de prueba.

Cada una de la neomicina da, a su vez, otro fragmento llamado respectivamente neobiosamina B y neobiosamina C.

Por hidrólisis prolongada de la neamina o neomicina A, en ácido fuerte, Kuehl, Bishop y Folkers obtuvieron meso-1-3 diamino, 4-5-6- trihidroxiciclohexano ($C_6H_{14}N_2O_3$), pero la estructura completa de la neamina no ha sido todavía publicada. Se cree que su fórmula empírica es $C_{12}H_{26}N_4O_6$. La neomicina A posee actividad biológica y se sabe que puede ser obtenida por metanólisis de las neomicinas B y C.

Las neomicinas B y C se cree son isoméricas.

La rotación específica de la neomicina B es - 54 grados y la de neomicina C, es 80 grados.

Las neomicinas B y C tienen 8 nitrógenos en la molécula y se cree que todos son grupos amino alfa o primarios, de acuerdo a los resultados obtenidos por determinaciones Van Slyke, pero Leach concluyó de los estudios hechos al infrarrojo, que en la molécula hay eslabonamientos de grupos poliamida y algunos grupos aminos libres.

Ha sido sugerida una fórmula empírica para las neomicinas B y C, la cual es $C_{29}H_{58}O_{16}N_8$.

El sulfato de neomicina deberá tener 4 moléculas de ácido sulfúrico si es que existen 8 nitrógenos básicos. Sobre esta base, el peso molecular de la neomicina base deberá ser 774.84 y el peso molecular del sulfato será 1167.16.

A la neomicina base pura, se le asigna una potencia teórica de 1000 mcg/mg. El sulfato contiene un 66.4% de neomicina base y por éso se le asigna una potencia teórica de 664 mcg/mg. Si solamente existen 6 nitrógenos básicos en la molécula de neomicina, el sulfato tendrá un peso molecular de 1,068.88 y una potencia teórica de 726 mcg/mg.

No existen grupos ácidos, carbonilos y metoxilos.

ESTABILIDAD.

Farmacéuticamente evaluadas, las formas de neomicina son estables a temperatura ambiente. Sus soluciones son estables dentro de un amplio margen de pH y hay pequeña pérdida de la potencia del antibiótico cuando sus soluciones acuosas son almacenadas a temperatura ambiente por algunos meses.

Simone y Popino reportaron que sus soluciones diluidas son estables hasta por dos años, a temperatura ambiente; sin embargo, para preservarse, deben ser refrigeradas y protegidas de la

luz, ya que ésta las oscurece. También encontraron que el uso de antioxidantes en una solución reguladora a pH 6 ó 7, retarda el desarrollo de color.

La neomicina es precipitada de soluciones acuosas por los ácidos sulfónicos, por lo cual estos compuestos deben ser evitados en formulaciones farmacéuticas a base de neomicina.

IDENTIFICACION.

Una solución de 5 mg de sulfato de neomicina en 2 ml de ácido sulfúrico, es incolora, a diferencia de la eritromicina que da una coloración café rojiza. Diluyendo 3 ó 4 veces el volumen con agua, la solución queda clara, no así la tirotricina y gramicidina, que se precipitan.

Las soluciones de sulfato de neomicina, responden a la prueba de identificación de los sulfatos.

PERDIDA POR SECADO.

Cuando es secada por vacío a 60° por espacio de 3 horas, pierde no más de 8% de su peso.

pH.- El pH de una solución conteniendo 33 mg de neomicina por ml, es no menor de 5.0 y no mayor de 7.5.

PRUEBA DE TOXICIDAD.

El sulfato de neomicina aplicado por vía intravenosa a los ratones, no debe producir la muerte a una dosis de 100

mcg/20 g de ratón.

Estas especificaciones son establecidas por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

METODOS DE VALORACION.

La actividad del sulfato de neomicina se valora por método microbiológico, el cual consiste en la observación y medición de zonas de inhibición del crecimiento del *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* por el método cilindro-placa, o por ensayo turbidimétrico con *Klebsiella pneumoniae*.

ACCION FARMACOLOGICA.

La neomicina no sufre destrucción significativa en el conducto gastrointestinal, pero su absorción a través del intestino, es limitada. Por tanto, la vía de administración oral no es la más adecuada para una medicación sistémica, pero es muy usada para combatir infecciones por microorganismos entéricos.

Por administración parenteral, frecuentemente en animales experimentales, la neomicina pudo ser detectada en la sangre, líquido espinal, tejidos y orina.

En el hombre se observan elevaciones de los niveles en el plasma durante una hora después de la aplicación intramuscular, en proporciones aproximadas a 4 mcg/ml después de la administración de una dosis de 0.66 mg/Kg y cerca de 20 mcg/ml des-

pués de una dosis de 3.3. mg por kg de peso.

Se pueden detectar cantidades sobrantes de neomicina en las 4 a 8 horas siguientes a su administración.

La neomicina aplicada por vía intramuscular, aparece rápidamente en la orina. 72 mcg/ml son encontrados dos horas después de una aplicación de 1.16 mg/Kg

USOS.

La neomicina es activa contra numerosas especies de bacterias Gram (+) y Gram (-) y contra bacterias ácido resistentes, incluyendo cepas de M. tuberculosis H 37 Rv resistentes a la estreptomomicina.

En infecciones experimentales con bacterias Gram positivas y negativas en animales y contra especies de Treponema y Entamoeba hystolitica, la neomicina es algunas veces más efectiva que la estreptomomicina. Desafortunadamente, por sus efectos tóxicos sobre el riñón y sobre el nervio acústico, el uso de la neomicina no es tan amplio como las pruebas animales e "in vitro" sugieren que podría ser.

La neomicina fue encontrada más efectiva en tuberculosis extrapulmonar, que en las formas pulmonares avanzadas y fue mejor tolerada en pacientes jóvenes que en los de edad más avanzada. Fue ineficaz en meningitis tuberculosa.

La dosis administrada fue de 0.5 a 2.0 gramos diariamente, por vía parenteral durante 4 a 7 semanas.

Waisbren & Spink trataron 63 pacientes atacados por infecciones variadas, con neomicina, administrando 0.5 g por vía intramuscular 4 veces al día. 7 pacientes con tuberculosis no fueron mejorados, pero alrededor de 40 pacientes con infecciones urinarias ocasionadas por *P. vulgaris*, *E. coli*, *A. aerógenes* o *P. aeruginosa*, 31 fueron curados en 3 a 8 días.

Kadison y colaboradores, reportaron de buenas a excelentes respuestas obtenidas del tratamiento de diferentes enfermedades infecciosas, incluyendo tuberculosis pulmonar, brucelosis, shigelosis, salmonelosis e invasiones por *E. coli*, *Aerobacter* y *Pseudomonas* en 20 de 29 pacientes tratados por vía intramuscular con neomicina, en dosis de 200 hasta 1000 unidades (aproximadamente 1 a 5 mg de neomicina), por Kg de peso.

Las evidencias de resistencia adquirida durante el tratamiento fueron mínimas, pero en ambos casos hubo algunas manifestaciones de toxicidad.

Duncan hizo una observación similar, aunque menos amplia en la curación con neomicina de 10 casos de infecciones en el conducto urinario.

Nesbit y colaboradores informaron haber obtenido éxito

en 12 de 18 casos de infecciones crónicas resistentes a otros fármacos.

Wakssmann ha revisado otros informes sobre el uso de neomicina en infecciones sistémicas.

Hasta el presente, el uso clínico de neomicina está limitado principalmente a su aplicación tópica en desórdenes intestinales o en cirugía intestinal, administrándose por vía oral.

No tiene acción antimicótica y se usa en combinación con las sulfas para reducir bacterias del grupo clostridio.

USO TOPICO.

En base a la experiencia con tres diferentes formulaciones de neomicina usadas sobre 264 pacientes, con varias infecciones piogénicas, Livingood concluyó que la neomicina es probablemente el tratamiento elegido en el manejo de infecciones piogénicas cutáneas, excepto en el caso de algunas infecciones propias de Streptococcus hemolítico.

Las formas farmacéuticas preferidas para su uso, fueron: ungüentos, conteniendo 5 mg de neomicina/g de petrolato-lanolina como base, o también, solución acuosa (conteniendo 1 a 5 mg/ml), aplicada como una compresa, enjuague o como gotas óticas.

Ellos consideraron resultados particularmente impre-

sionantes en otitis externa. No hubo evidencia de sensibilización o de irritación primaria, pero se desarrollaron moniliasis cutáneas en 7 pacientes, después de aplicaciones prolongadas de neomicina. Esta complicación fue aclarada espontáneamente, cuando la terapia fue descontinuada.

Después de esta observación, sugirieron la adición de un agente antimicótico a preparaciones tópicas de neomicina para prevenir el desarrollo de monilias.

Similarmente, Kile y colaboradores, fueron impresionados por la efectividad del ungüento de neomicina con una concentración de 5 mg/g y la relativa ausencia de irritación cuando fue empleada en una serie de 869 casos.

En una serie de 675 pacientes, con infecciones en la piel, encontraron que la neomicina, en comparación con otros agentes antibacterianos, fue la más efectiva para combatir este tipo de infecciones.

Estos autores tuvieron mejores resultados con una base de tipo graso, que con una base de tipo miscible con agua.

Tanto Livingood, como Kile y colaboradores, notaron que el estreptococo hemolítico no responde también al tratamiento como otros microorganismos.

Gregory encontró respuestas rápidas de casos de erisipela en pescadores tratados con neomicina en forma tópica y con penicilina aplicada intramuscularmente.

En prácticas oftálmicas, se pueden usar soluciones acuosas que contengan 40 mg de neomicina/ml segura y efectivamente. Para aliviar la irritación que frecuentemente acompaña a las infecciones oculares que pueden retardar la curación, es posible adicionar acetato de hidrocortisona.

Una formulación adecuada, puede ser:

Neomicina sulfato	5 mg (equiv. a 3.5 mg de neomicina base)
Acetato de hidrocortisona	10 mg
Vehículo c.b.p.	1 gramo

Las pomadas para uso tópico y no para aplicación oftálmica, contienen algunas veces 0.2 mg de metilparabeno y 1.8 mg de para-hidroxi-benzoato de butilo.

USO ENTERICO.

La neomicina es un antiséptico intestinal efectivo. Después de la administración por vía oral, el antibiótico retiene su actividad hasta que se excreta por las heces.

Por tanto, en preparaciones preoperativas del conducto intestinal, la dosis permanece efectiva tanto tiempo como sea rete

nida. Se requieren algunos días de tratamiento convencional con sulfonamidas para disminuir la microflora intestinal, al mismo nivel que es obtenida con la neomicina en algunas horas.

La eliminación de las bacterias puede ocurrir en los 4 días siguientes a la administración de una dosis oral de 1 g de sulfato de neomicina/hora durante 4 dosis y un gramo cada 4 horas para 4 dosis más.

En casos de emergencia que requieren de inmediata cirugía, el intestino puede ser inundado con una solución de neomicina al 1%. Junto con la neomicina se usa el ftalil sulfatiazol para prevenir el crecimiento de *Aerobacter aerógenes* resistentes.

La reducción de bacterias puede ser seguida de un aumento transitorio en la población de levaduras, pero éste no fue problema clínico en 50 casos reportados por Davis, en los cuales fue ingerida una dosis de 1 g cada 4 horas durante 24 horas, antes de la cirugía y se usaron 4 gramos 24 horas antes de la operación. Durante los tres días preoperatorios se administraron dietas de poco residuo y catarsis salina diaria.

Munthe Fog ha usado 3 g de neomicina y 3 gramos de bacitracina diariamente durante 3 días. Este tratamiento eliminó todas las bacterias de los intestinos de 47 pacientes estudiados.

Mc Vay y colaboradores, trataron pacientes con amibia

sis con 50,000 unidades de neomicina, oralmente, cada 3 horas por un día y 50,000 unidades 4 veces diariamente hasta completar un total de 1.600,000 unidades.

En algunos pacientes desaparecieron los síntomas de amibiasis.

TOXICOLOGIA.

La dosis tóxica aguda (LD_{50}) de neomicina, para ratones fue reportada como 14.5 mg/kg de peso, administrada por vía intravenosa, 116 mg por vía intraperitoneal y 120 mg por vía subcutánea y más de 2880 mg por vía oral.

Cuando se presenta toxicidad crónica, se manifiesta como un trastorno renal, un mal funcionamiento auditivo. En los humanos se presenta como una sordera parcial o total, transitoria o permanente, disfunción vestibular, lesiones renales (con desechos renales, hematuria microscópica y albuminuria) e incremento de nitrógeno no proteico en el suero, el cual ha sido reportado después de inyecciones intramusculares de neomicina, por algunos días.

La severidad y duración (transitoria o permanente) de los síntomas de sordera, dependen de la duración o intensidad del tratamiento. Estos síntomas desaparecen espontáneamente cuando el fármaco es retirado oportunamente.

Usualmente es segura una dosis de 10 mg por kg de peso corporal, por día, durante 5 a 8 días.

Aplicada por vía oral o tópica, la neomicina no es absorbida y puede ser usada con confianza. Es relativamente no sensibilizante de la piel y aún en los ojos raras veces causa irritación. Sin embargo, Poth desacreditó su uso tópico y argumentó que debe restringirse su aplicación en antisepsia intestinal, para evitar un posible desarrollo de cepas resistentes que puedan, eventualmente, restar efectividad al fármaco en el caso de una intervención quirúrgica intestinal.

Por lo visto anteriormente, su aplicación por vía intramuscular no es recomendable por sus efectos oto y nefrotóxicos, excepto en pacientes con un funcionamiento hepático y renal completamente normal y que padezcan infecciones severas causadas por microorganismos que no respondan al tratamiento con otros antibióticos y cuya sensibilidad a la neomicina haya sido comprobada mediante pruebas "in vitro".

Respecto a su efecto nefrotóxico, se han encontrado en autopsias, lesiones renales glomerulares y tubulares de carácter degenerativo y aún necrótico, cuando su administración ha sido parenteral y continua.

Cuando se administra por vía oral, se obtienen niveles

sanguíneos muy bajos e inconstantes, debido a su escasa absorción, mientras que son altos en las heces.

Es muy usada en el tratamiento de la salmonelosis, shigelosis, amibiasis y otras infecciones entéricas. Se usa en forma de suspensión acuosa con caolín, pectina y metil celulosa.

La neomicina no es inactivada por otros antibióticos. Hay formulaciones de pomadas y trociscos que contienen neomicina y bacitracina, gramicidina o polimixina.

Para gotas nasales, la neomicina es asociada con bacitracina y un vasoconstrictor.

La neomicina puede disminuir el nivel de colesterol sanguíneo. Se ha demostrado que puede aumentar la excreción de ácidos biliares fecales, quizás a consecuencia de la acción del antibiótico sobre la flora intestinal. Además, puede lesionar las vellosidades de la mucosa intestinal y provocar esteatorrea.

Desde el punto de vista técnico farmacéutico, es incompatible con preparaciones que contengan lanolina hidratada, lauril sulfato de sodio, carboximetilcelulosa, alginato de sodio, tween 85, arlacel 60. Se precipita bajo la influencia del ácido tánico.

Para la manufactura de tabletas para deglutir, a ba-

se de neomicina se recomienda el alcohol polivinílico, metilcelulosa o pectina, como buenos agentes para la granulación.

Las sustancias aniónicas y los iones orgánicos reducen parcialmente los efectos de la neomicina.

DOSIFICACION.

La dosis usual es de un gramo de base, cada 4 horas, por vía oral, con variaciones de un total diario de 4 a 10 gramos de base.

Para uso externo, las formulaciones de pomadas son al 0.5% y soluciones acuosas de sulfato de neomicina con más de 4%. Los ungüentos pueden ser aplicados libremente a la piel cuantas veces sea necesario.

Las soluciones que contengan arriba de 40 mg por ml, pueden ser aplicadas en cada ojo, cada 2 ó 3 horas, o como sea necesario, sin causar efectos molestos.

Para desórdenes intestinales en adulto, las dosis varían entre 25 a 75 mg, 4 veces al día y, generalmente, son suficientes, pero pueden incrementarse en casos de infecciones severas.

Para niños, 25 mg 4 veces al día, durante 5 ó 6 días, es una dosis adecuada.

Esta misma dosis, pero 2 veces al día, puede ser usada para niños de 1 a 5 años de edad.

La administración parenteral que, como ya se dijo anteriormente, debe ser solamente bajo circunstancias especiales y debe ser a una dosis máxima de 2 gramos, aplicada en porciones iguales, con intervalos de 6 horas, o sea 0.5 gramos cada 6 horas.

ALMACENAMIENTO.

Como materia prima, se recomienda almacenarse en recipientes cerrados, al abrigo de la luz y en lugares secos y frescos.

USOS DE LA NEOMICINA EN AVES DE CORRAL.

A la neomicina, aparte de usarse para combatir enfermedades de tipo infeccioso, se le han dado las siguientes aplicaciones.

A).- Mejoramiento en el aprovechamiento de los alimentos.

Los resultados de dos experimentos efectuados con pollos, muestran que el crecimiento y otros parámetros fueron marcadamente abatidos cuando se les dió una alimentación a base de suplementos que contenían, aproximadamente, 53% de frijol seco.

Cuando el frijol se calienta en autoclave, antes de adicionarse a los suplementos alimenticios, no se observa abatimiento del crecimiento de los pollos alimentados con este tipo de alimento. Esto se debe a que con el calentamiento, se destruyen los factores que se encuentran presentes en el frijol, lenteja y guisantes y que afectan el crecimiento de los animales que los consumen como alimentos.

Si se adiciona un antibiótico a los suplementos preparados con frijol, sin someterse a calentamiento, se observa que además de contrarrestar los efectos inhibitorios del frijol, incrementa el desarrollo de los animales que consumieron el alimento. Esto se debe a que incrementa la eficiencia alimenticia, al aumentarse el aprovechamiento de las proteínas, siempre y cuando se en

cuentre presente la metionina.

Estos resultados se obtienen si se usa neomicina en concentraciones de 1,100 ppm.

B).- Mejoramiento de la producción y calidad del huevo.

Administrada, junto con la terramicina en suplementos alimenticios, mejora la producción y calidad del huevo y la función reproductora de los pavos, acelerando su madurez sexual, aumentando su fertilidad y el consumo de alimentos.

Otra aplicación de la neomicina en aves de corral, es la siguiente:

En las gallinas ponedoras, se presentan casos de mortalidad en alto grado por inanición en la época de la postura.

Cuando se les aplica a las gallinas, por vía oral, una solución compuesta de vitaminas y neomicinas, se disminuye la mortalidad de las mismas.

Formulación de la solución:

Neomicina -----	10	mg
Vitamina A -----	1,100	U.
Vitamina D ₃ -----	220	I.C.U.
Vitamina E -----	0.32	U.I.
Vitamina B ₁₂ -----	1.1	mcg
Vitamina C -----	2.0	mg
Vitamina K -----	0.54	mg
Piridoxina -----	0.21	mg
Acido Fólico -----	0.02	mg
Vehículo c.b.p. -----	1	ml

Se ha observado que cuando se administran continuamente niveles de 50 g de neomicina y 50 g de terramicina por tonelada de alimento a gallinas a través del ciclo de reproducción, mejoran notablemente las crías de estas gallinas, tanto en tamaño como en vitalidad y, desde luego, mejora también la calidad del huevo.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIAL Y METODOS

El trabajo desarrollado se llevó a cabo de la siguiente manera:

- 1.- Se adquirieron pollos de 2 a 3 semanas de edad, los cuales después de ser sometidos a examen médico para comprobar un estado de salud satisfactorio, fueron colocados en jaulas propias para aves de corral.

No se requirió un determinado tipo o raza de pollo, únicamente se procuró que fueran de granja.

- 2.- Fueron sometidos a un período de adaptación de 1 a 2 semanas, durante el cual se les alimentó con un alimento propio para aves de los existentes en el mercado adicionado de un coccidiostático.

3.- Transcurrido el período de adaptación, o sea cuando los animales tenían una edad de 4 semanas, se les aplicó por vía subcutánea, en la base del cuello, una solución estéril de una mezcla de neomicina con otro antibiótico, a una dosis de 1 ml/kg de peso.

La solución inyectable contenía 20 mg de neomicina base.

4.- Los pollos fueron sacrificados mediante una descarga eléctrica, 1, 3, 5, 7, 14 y 21 días después de la aplicación del antibiótico en estudio, tomando el día de la inyección como 0.

5.- Sacrificado el animal, se procedió a la recolección de los órganos y tejidos sobre los cuales se practicó el análisis y fueron los siguientes: músculo pectoral, corazón, tejidos adyacentes al sitio de aplicación del antibiótico (piel, grasa y músculo), hígado y riñones.

Una vez recolectados e identificados adecuadamente, se congelaron hasta el momento de su análisis, el cual fue practicado en los tejidos y órganos crudos y como un complemento al trabajo, se hicieron unas determinaciones sobre muestras cocidas

a manera de consomé casero, empleando para su elaboración verduras y los condimentos necesarios.

Esta última determinación sólo se practicó en riñón, cuantitativamente y en los otros tejidos, sólo se practicó cualitativamente. Asimismo, al caldo también se le practicó una prueba cualitativa.

6.- A su vez, se mantuvieron junto con los animales sometidos al tratamiento, otros a los cuales no se les administró el medicamento y que sirvieron como testigos.

Durante el tiempo que duró la prueba, se observó si no se presentaban casos de mortalidad.

El método que se aplicó para el análisis de neomicina residual, se describe en la siguiente página.

DETERMINACION DE NEOMICINA EN TEJIDOS

METODO MICROBIOLOGICO DE DIFUSION EN PLACA

MEDIOS DE CULTIVO.

1.- Medio A.

Peptona -----	6.0 g
(') Caseína hidrolizada -----	4.0 g
Extracto de Levadura -----	3.0 g
Extracto de carne -----	1.5 g
Dextrosa anhidra -----	1.0 g
Agar -----	15.0 g

Se disuelven estos ingredientes en un litro de agua, se ajusta el pH a 6.5 - 6.6 y se esteriliza en autoclave durante 15 minutos a 121°C.

----- 0 -----

2.- Medio B.

Peptona -----	6.0 g
(') Caseína hidrolizada -----	4.0 g
Extracto de levadura -----	3.0 g
Extracto de carne -----	1.5 g
Dextrosa anhidra -----	1.0 g
Agar -----	20.0 g

Se disuelven estos ingredientes en un litro de agua, se ajusta el pH con solución 1 N de NaOH a 7.9 y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 30 minutos.

(') Hidrólisis por digestión pancreática.

REACTIVOS.

- 1.- Solución amortiguadora de fosfatos pH 8.0.- Se disuelven 16.73 g de fosfato dibásico de potasio anhidro y 0.523 g de fosfato monobásico de potasio anhidro en agua y se afora a 1 litro.
- 2.- Solución amortiguadora de fosfatos a pH 4.5.- Se disuelven 13.6 g de fosfato monobásico de potasio anhidro y se afora a 1 litro con agua.
- 3.- Solución de hidróxido de sodio al 50%.
- 4.- Solución de cloruro de sodio al 0.9% estéril.
- 5.- Acido sulfúrico concentrado.

----- 0 -----

APARATOS.

- 1.- Licuadora Osterizer.
- 2.- Cilindros de acero inoxidable pulido con 8 ± 0.1 mm de diámetro exterior, 6.0 ± 0.1 mm de diámetro interior y 10 ± 0.1 mm de longitud.
- 3.- Pinzas para colocar los cilindros
- 4.- Cajas Petri.
- 5.- Estuche de disección.

----- 0 -----

MICROORGANISMO DE PRUEBA: Staphilococcus epidermidis ATCC 12228

PREPARACION DEL INOCULO.

Se siembra el contenido de una ampolleta del microorganismo liofilizado, previamente suspendido en una poca de solución salina isotónica, estéril, en un tubo que contenga caldo de soya y tripticasa estéril, se incuba durante 18 horas a 37°C, se resiembra por estría en tubos inclinados de medio cultivo A, se incuba a 37°C, durante 18 a 24 horas, transcurrido este tiempo, se recupera el cultivo con solución salina isotónica estéril. Se determina su transmisión en un colorímetro Spectronic 20 Bauch & Lomb a 650 milimicras.

Para inocular el medio que servirá de semilla en las placas para el análisis, se utiliza en una proporción de 1 ml con 20% de transmisión, por cada 100 ml de medio.

Para mantener activa la cepa, debe resembrarse cada semana y mantener las resiembras en medio sólido, en refrigeración, después de su incubación.

PREPARACION DE LAS PLACAS.

Base.- Colocar 12 ml del medio de cultivo B estéril, a cada caja Petri, previamente esterilizada, se dejan reposar sobre una superficie completamente plana hasta que solidifique el medio.

Semilla.- Se inocula una parte del medio B estéril

con una cantidad adecuada de inóculo, se mezcla muy bien y se agregan 4 ml a las cajas preparadas previamente con su base, la cual debe estar solidificada. Se distribuyen bien sobre la superficie de la placa y se dejan sobre una superficie plana hasta que solidifiquen. Es conveniente refrigerarlas una hora antes de usarse.

PREPARACION DE LA SOLUCION PATRON.

Se pesa exactamente una cantidad de sulfato de nemocina, de acuerdo a su potencia, equivalente a 50 mg como base y se afora a 500 ml con solución reguladora pH 8.0, obteniéndose una solución con una concentración de 100 mcg/ml. De esta solución se toman alícuotas de 1 y 10 ml y se aforan a 100 con solución reguladora pH 8.0, obteniéndose soluciones con concentraciones de 1 y 10 mcg/ml, respectivamente (soluciones 2 y 3).

La solución concentrada puede guardarse por espacio de 4 semanas bajo refrigeración.

PREPARACION DE LA CURVA PATRON.

Las soluciones para la preparación de la curva patrón se preparan a partir de las soluciones 2 y 3, tomando alícuotas y diluyéndolas con un extracto de tejidos y vísceras de pollos del mismo tipo de los usados para el desarrollo del presente trabajo y solución amortiguadora pH 8.0, en proporción 1:4 peso/volumen. Este extracto se prepara de la siguiente manera:

Se pesan los tejidos y vísceras (hígado, riñón, músculo pectoral, corazón y piel), se diluyen con solución reguladora pH 4.5 en la proporción arriba indicada y se muelen en la licuadora. Se ajusta el pH a 2.0 con ácido sulfúrico concentrado y se centrifuga. Se decanta y el sobrenadante se ajusta a pH 8.0 con solución al 50% de hidróxido de sodio. Se vuelve a centrifugar si es necesario y con esta solución se hacen las diluciones de las soluciones 2 y 3, de acuerdo con los siguientes cuadros:

ml. solución # 2	ml. extracto	Concentración mcg/ml
8.0	12.0	0.4
12.0	8.0	0.6
20.0	-	1.0

ml. solución # 3	ml. extracto	Concentración mcg/ml.
3.0	17.0	1.5
4.0	16.0	2.0

PREPARACION DE LAS MUESTRAS.

Se hace la preparación individualmente de cada parte recolectada, en la siguiente forma:

Se pesa la muestra correspondiente (hígado, corazón, riñón, etc.), se coloca en la licuadora, se diluye con solución amortiguadora pH 4.5 en proporción 1:4 peso/volumen y se muele muy bien. Se ajusta el pH a 2.0 con ácido sulfúrico concentrado y se centrifuga. Se decanta y se ajusta el pH del sobrenadante a 8.0 con solución de hidróxido de sodio al 50% y se centrifuga si es necesario.

TECNICA DEL ANALISIS.

Se usan grupos de 3 placas de las preparadas inicialmente, es decir con base y semilla, para cada dilución de la solución patrón y también para cada muestra. Se identifican convenientemente y se colocan en la superficie de la placa 5 cilindros, 2 de los cuales en forma alterna, se marcan, ya que serán los que lleven la solución patrón de referencia (en este caso la concentración de 1.0 mcg/ml), o sea la que servirá de factor común de corrección en todas las placas, tanto de solución patrón para la gráfica, como de las muestras. Los otros tres cilindros se llenan con la solución correspondiente (patrón o muestra), se incuban sobre una superficie plana a 37°C por espacio de 16-18 horas.

Transcurrido el tiempo de incubación, se retiran los cilindros y se mide el halo de inhibición en un aparato Lilly-Fisher, anotando por separado las lecturas de la solución de referencia y las de la dilución correspondiente de solución patrón o

muestra. De esta forma se obtienen por cada serie de placas, 6 lecturas de la solución de referencia y 9 de la dilución patrón y de muestra.

Se promedian las lecturas de la solución de referencia por separado y luego se hace un promedio de promedios. También se promedian por separado las lecturas de las diluciones patrón y las muestras.

Se hace la corrección de las lecturas, tanto de muestras como de las diluciones de la solución patrón sumando o restando la diferencia existente entre el promedio general de las lecturas de la solución de referencia y el promedio individual de cada una de las mismas, correspondiente a la dilución o muestra por corregir.

Se traza la gráfica patrón en papel semilogarítmico, poniendo en la escala aritmética las lecturas de los diámetros en milímetros y en la escala logarítmica, las concentraciones (mcg/ml).

Las lecturas de las muestras, ya corregidas, se interpolan en la gráfica patrón y para obtener la concentración de neomicina por gramo de muestra, se multiplican los microgramos obtenidos de la lectura por la dilución efectuada y se divide entre el peso de la muestra.

CALCULOS Y RESULTADOS OBTENIDOS

Datos para obtener resultados de las muestras tomadas un día después
de la aplicación del antibiótico.

LECTURAS DE LA SOLUCION PATRON PARA LA PREPARACION DE LA GRAFICA.

DILUCIONES				SOLUCION DE REFERENCIA			
0.4	0.6	1.5	2.0	0.4	0.6	1.5	2.0
13.2	14.8	16.4	17.8	15.8	15.0	15.8	15.4
13.4	14.4	16.2	17.4	16.2	15.8	14.8	15.8
14.2	13.8	15.8	17.2	15.4	15.6	15.6	15.2
13.2	14.2	16.8	18.0	15.2	16.2	16.0	16.0
11.1	14.8	16.8	17.8	15.6	16.2	16.4	15.8
13.6	14.8	17.0	17.6	15.4	15.8	15.5	16.0
14.6	14.6	16.4	17.4				
13.6	13.2	16.4	17.6				
13.6	15.0	16.2	17.8				
			PROMEDIOS				
13.40	14.60	16.40	17.60	15.60	15.80	15.70	15.90

MUESTRAS					SOLUCION DE REFERENCIA				
I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
-	-	18.0	16.4	17.4	14.4	15.6	16.2	16.2	16.0
-	-	17.2	15.8	18.0	15.8	15.8	16.2	15.2	15.8
-	-	17.6	17.0	16.4	15.8	15.4	16.8	15.7	15.0
-	-	16.8	16.4	15.0	16.2	16.2	15.8	16.2	16.0
-	-	17.2	16.2	16.8	16.0	15.0	15.6	15.2	15.6
-	-	16.0	17.0	16.4	15.6	15.4	15.8	16.0	16.2
-	-	17.4	16.4	16.4					
-	-	17.0	16.0	15.8					
-	-	17.2	15.0	16.8					
PROMEDIOS									
I		17.10	16.20	16.60	15.60	15.60	16.10	15.70	15.80

PROMEDIO DE PROMEDIOS O GRAN PROMEDIO ----- 15.70

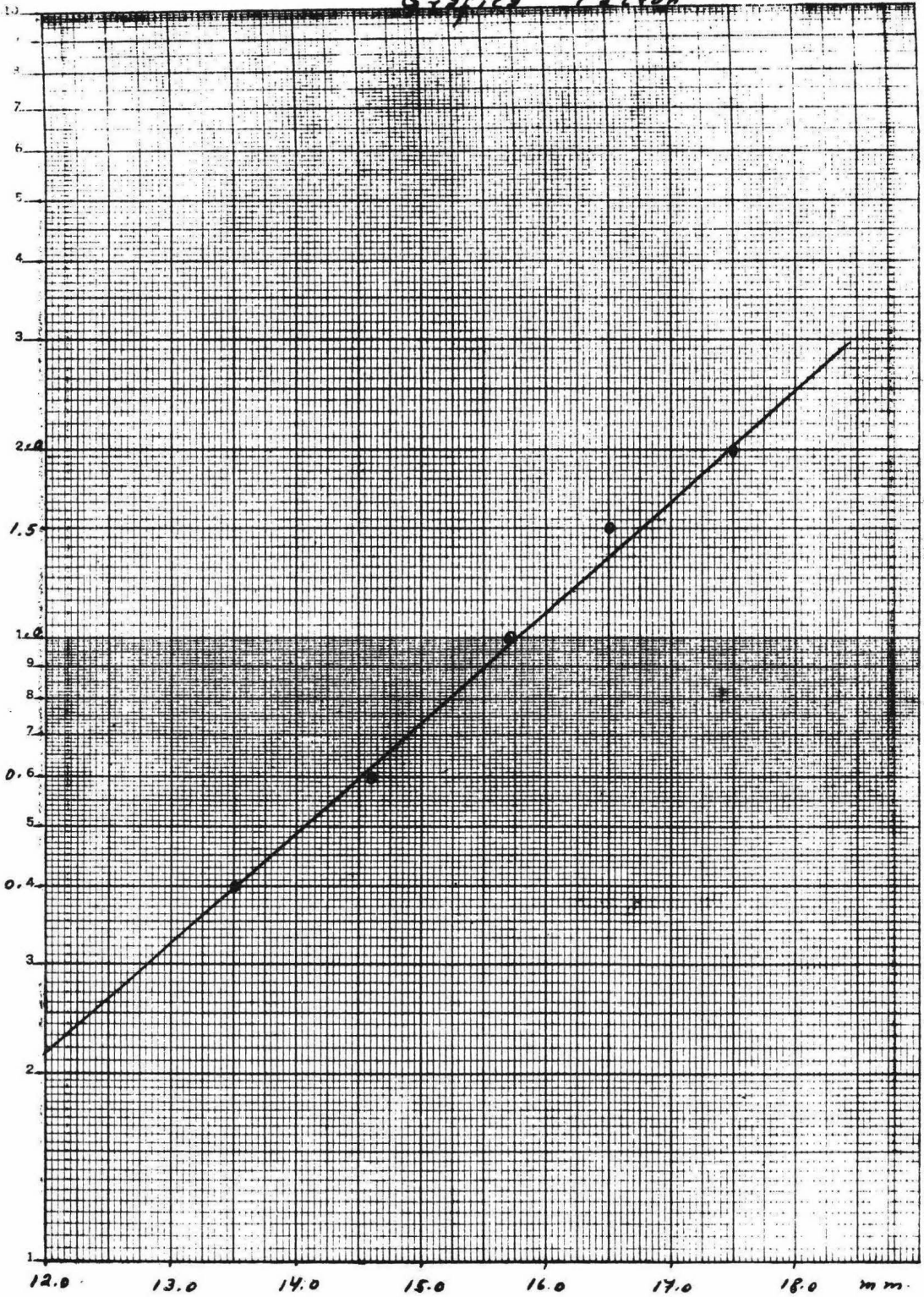
LECTURAS YA CORREGIDAS PARA LA GRAFICA.

Diluciones:	0.4	0.6	1.0	1.5	2.0
Lecturas (mm)	13.50	14.60	15.70	16.50	17.50

LECTURAS CORREGIDAS DE LAS MUESTRAS

Muestras	I	II	III	IV	V
Lecturas	-	-	16.80	16.20	16.50 mm

Gráfica Patión



No. de muestra	Organo o tejido	Cantidad pesada	Volumen de diluyente
I	Músculo pectoral	5.531 g	22 ml
II	Corazón	1.524 g	8 ml
III	Piel	1.406 g	8 ml
IV	Hígado	7.344 g	30 ml
V	Riñón	1.980 g	30 ml

CALCULOS.

Se aplica la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Lectura en la gráfica (mcg)} \times \text{dilución}}{\text{Peso de la muestra (g)}} = \text{mcg/g neomicina}$$

Piel.

Lectura: 16.80 equivale en la gráfica a 1.52 mcg.

$$\frac{1.52 \times 8}{1.406} = 8.65 \text{ mcg/g}$$

Hígado.

Lectura: 16.20 equivale en la gráfica a 1.18 mcg.

$$\frac{1.18 \times 30}{7.344} = 4.82 \text{ mcg/g}$$

Riñón.

Lectura: 16.50 equivale en la gráfica a 1.34 mcg

$$\frac{1.34 \times 30}{1.914} = 21.00 \text{ mcg/g}$$

Todas las determinaciones fueron hechas en la misma forma que la descrita, elaborando su respectiva gráfica patrón. El peso promedio de los pollos fue de 209 g al inyectar.

RESULTADOS OBTENIDOS

1 DIA DESPUES DE LA APLICACION.

Muestra	D e t e r m i n a c i o n e s		
	1a.	2a.	3a.
Músculo pectoral	0	0	0
Corazón	0	0	0
Piel	8.65	10.42	7.23 mcg/g
Hígado	4.82	6.10	5.92 mcg/g
Riñón	21.00	24.60	19.41 mcg/g

3 DIAS DESPUES DE LA APLICACION.

Muestra	D e t e r m i n a c i o n e s :		
	1a.	2a.	3a.
Músculo pectoral	0	0	0
Corazón	0	0	0
Piel	4.68	7.21	5.97 mcg/g
Hígado	6.17	5.94	6.21 mcg/g
Riñón	20.86	20.30	18.82 mcg/g

5 DIAS DESPUES DE LA APLICACION.

Muestra	D e t e r m i n a c i o n e s		
	1a.	2a.	3a.
Músculo pectoral	0	0	0
Corazón	0	0	0
Piel	4.49	6.20	4.26 mcg/g
Hígado	4.80	4.16	5.10 mcg/g
Riñón	10.86	14.20	12.86 mcg/g

7 DIAS DESPUES DE LA APLICACION.

Muestra	D e t e r m i n a c i o n e s		
	1a.	2a.	3a.
Músculo pectoral	0	0	0
Corazón	0	0	0
Piel	1.72	3.24	2.19 mcg/g
Hígado	2.42	3.40	3.98 mcg/g
Riñón	6.14	11.65	9.42 mcg/g

14 DIAS DESPUES DE LA APLICACION.

Muestra	Determinaciones		
	1a.	2a.	3a.
Músculo pectoral	0	0	0
Corazón	0	0	0
Piel	1.33	2.07	1.12 mcg/g
Hígado	1.33	1.80	1.84 mcg/g
Riñón	2.38	4.89	5.62 mcg/g

21 DIAS DESPUES DE LA APLICACION.

Muestra	Determinaciones		
	1a.	2a.	3a.
Músculo pectoral	0	0	0
Corazón	0	0	0
Piel	Positiva	Positiva	0
Hígado	Positiva	Positiva	Positiva
Riñón	2.22	3.12	2.03

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS ADICIONALES.

1 DIA DESPUES DE LA APLICACION DEL ANTIBIOTICO.

Muestra	Tejido crudo	Tejido cocido
Músculo pectoral	0	0
Riñón	66.1	70.0 mcg/g

7 DIAS DESPUES.

Muestra	Tejido crudo	Tejido cocido
Músculo pectoral	0	0
Riñón	10.10	9.02 mcg/g

Las concentraciones de antibiótico son elevadas por haberse usado pollos de más edad y peso.

OBSERVACIONES.

- Músculo pectoral. Por el método aplicado no se detectó neomicina residual a través de toda la prueba. Probablemente existan niveles tan bajos que no sean fácilmente detectables.
- Corazón. En este órgano tampoco se detectó neomicina.
- Piel y tejidos adyacentes. Fue posible determinar la actividad de la neomicina residual en estos tejidos en forma cuantitativa hasta 14 días después de su aplicación. El vigésimo primer día sólo se detectó en forma cualitativa.
- Hígado. La actividad de la neomicina en este órgano persiste en cantidades cuantificables hasta el décimo cuarto día. Después solamente se determinó cualitativamente. Se observó, además un incremento entre el primero y tercero días en dos de los animales inyectados.
- Riñón. En este órgano, la neomicina permanece en cantidades susceptibles de medirse, hasta el vigésimo primer día después de la aplicación del antibiótico. No se presentaron casos de mortalidad.

CONCLUSIONES.

La actividad de la neomicina no fue detectable en ninguna muestra de tejido muscular y corazón, por el método usado en este experimento.

La neomicina es eliminada casi totalmente del hígado y la piel (punto de aplicación del antibiótico), hasta el vigésimo primer día de su aplicación.

El riñón no alcanza a eliminar completamente la neomicina en el transcurso de los 21 días que duró el experimento.

La coacción de los tejidos y órganos no afecta la actividad de la neomicina.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Osol-Farrar-Pratt.
United States Dispensatory.
25th Edition.
J. B. Lippincott Company.
Philadelphia - Montreal.
1960.

- 2.- Donald C. Grove and William A. Randall.
Assay Methods of Antibiotics.
A Laboratory Manual.
Medical Encyclopedia Inc.
New York.

- 3.- Q.F.B. María del Consuelo Hidalgo y Mondragón.
Farmacia Química.
Primera Edición.
Editorial Alhambra, S.A.
Madrid. 1969.

- 4.- Poultry Science.
Official Journal of the Poultry Science Association.
Editorial Board.
Vol. 51 # 2.
March, 1972.

- 5.- Poultry Science.
Official Journal of the Poultry Science Association.
Editorial Board.
Vol. 50 # 1.
January 1971.

- 6.- F. D. Craik - Stephen Willcox.
Process Biochemistry.
Editorial Board.
Volume 5 # 1.
January 1970.
London, England.

- 7.- Poultry Science.
Official Journal of the Poultry Science Association.
Editorial Board.
Volume 49 # 1 - # 5.
January - September 1970.

- 8.- Litter.
Farmacología.

- 9.- Dr. Andrés Goth.
Farmacología Médica. Traducción de Alberto Folch y P.
3a. Edición. Editorial México - Interamericana.
Pág. 405.
1966.

- 10.- Sollman.
Farmacología.
Pág. 813.

- 11.- Textbook of Organic Medicinal and
Pharmaceutical Chemistry.