



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

EVALUACION DEL USO DE AMBROXOL Y BROMHEXINA
PARA PROMOVER LA PENETRACION DE LA FURAL-
TADONA A LAS SECRECIONES BRONQUIALES EN
POLLOS DE TRECE A QUINCE DIAS DE EDAD

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
Para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista
por
ALEJANDRA CAPISTRAN CASTRO



Asesores: Ph. D. MVZ. Héctor Sumano López
M. Sc. MVZ. Cristina Escalante Ochoa
MVZ. Gerardo Meade Moreno

México, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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 está 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.

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
HIPOTESIS Y OBJETIVO.....	18
MATERIAL Y METODOS.....	19
RESULTADOS.....	32
DISCUSION.....	35
LITERATURA CITADA.....	42
FIGURAS.....	44
CUADROS.....	48

R E S U M E N

Capistrán Castro, Alejandra. EVALUACION DEL USO DE AMBROXOL Y BROMHEXINA PARA PROMOVER LA PENETRACION DE FURALTADONA A LAS SECRECIONES BRONQUIALES EN POLLOS DE TRECE A QUINCE DIAS DE EDAD. (Bajo la asesoria de el MVZ Héctor Sumano López, de la MVZ Cristina Escalante Ochoa y de el MVZ Gerardo Meade M)

Dada la utilidad de la furaltadona en la producción de pollo y la eficacia del ambroxol como agente mucolítico en medicina humana, se consideró de interés evaluar la eficacia clínica y mucolítica de la mezcla ambroxol-furaltadona por comparación a las mismas variables en animales tratados con bromhexina-furaltadona y furaltadona sola. Como modelo se utilizaron cien pollos de trece a quince días de edad positivos a la enfermedad respiratoria crónica complicada con Escherichia coli. Los resultados indicaron una mayor viscosidad del moco en el grupo tratado con ambroxol-furaltadona pero no se observaron tapones en este grupo por lo que se consideró que el mejor efecto mucolítico lo inducía esta mezcla. Este punto de vista es congruente con los resultados clínicos obtenidos. No se lograron determinar las concentraciones del nitrofurano en vías respiratorias dado que tanto el método de difusión en placa como el método de susceptibilidad a quimioterapéuticos mediante macrodiluciones en caldo no brindaron resultados confiables. De esta forma se postula el uso del ambroxol en la avicultura.

INTRODUCCION

Los nitrofuranos inducen por lo general poca resistencia bacteriana y representan una de las opciones más económicas para el tratamiento de diversas patologías en las aves.

Las enfermedades que afectan principalmente el aparato respiratorio de las aves son las siguientes:

A: ENFERMEDADES BACTERIANAS:

NOMBRE DE LA ENFERMEDAD	AGENTE ETIOLOGICO
+ Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada (ERCC):	<u>Mycoplasma gallisepticum</u> y <u>Mycoplasma synoviae.</u>
+ Coriza Infecciosa:	<u>Haemophilus gallinarum</u> o <u>Haemophilus paragallinarum.</u>
+ Cólera Aviar :	<u>Pasteurella multocida.</u>
+ Clamidiosis:	<u>Chlamydia psittaci.</u>
+ Infección por <u>Pasteurella anatispestifer:</u>	<u>Pasteurella anatispestifer.</u>

B: ENFERMEDADES VIRALES:

NOMBRE DE LA ENFERMEDAD	AGENTE ETIOLOGICO
+ Enfermedad de Newcastle:	Paramyxovirus.
+ Bronquitis Infecciosa:	Coronavirus
+ Laringotraqueitis Infecciosa:	Virus Herpes.
+ Influenza Aviar:	Ortomixovirus.

C: ENFERMEDADES POR HONGOS:

+ Aspergilosis.	<u>Aspergillus fumigatus</u>
	<u>Penicillium</u>
	<u>Cephalosporium</u>

D: ENFERMEDADES POR CAUSAS DIVERSAS:

+ Deficiencia por vitamina A.

Habitualmente, se aplican antibióticos o quimioterapéuticos al recibir a los pollos en las granjas en la primera semana de edad o 2 ó 3 días después de algún manejo de vacunación, como puede ser el caso de la enfermedad de Newcastle o de la enfermedad respiratoria crónica complicada (ERCC), dado que se pretende disminuir la susceptibilidad a infecciones principalmente respiratorias (9,19,22,25). Esta práctica se lleva a cabo en función de las reacciones que se observan en muchas explotaciones a dichas vacunas, y a la carga bacteriana con la que llegan los pollos.

A pesar de que los nitrofuranos se han utilizado por casi medio siglo en el tratamiento de las enfermedades bacterianas de los animales domésticos, aún siguen siendo magníficas opciones para la clínica de las aves (13,23). Particularmente, resultan una alternativa importante para infecciones causadas por Escherichia coli o Mycoplasma sp por ejemplo.

La ERCC es un padecimiento de las aves, de curso prolongado y surge como una complicación de la enfermedad respiratoria crónica, y en ella se encuentran involucrados algunos virus respiratorios, la E. coli, diferentes estados de tensión, fallas de manejo y, como agentes primarios el Mycoplasma gallisepticum y Mycoplasma synoviae. Esta enfermedad es de distribución mundial y se presenta principalmente en granjas comerciales durante el invierno. En México es la enfermedad de mayor importancia ya que en las aves en crecimiento produce serias pérdidas económicas por la reducción de la eficiencia alimenticia y

de las ganancias de peso. En las parvadas ponedoras, las aves no alcanzan la producción máxima de huevo.

En cuanto al tratamiento se debe de tomar en cuenta, que los antibacterianos que se puedan administrar deben reunir una serie de requisitos indispensables entre los que destacan los siguientes:

a) Que sea soluble en el agua; este requisito que parece de poca importancia es en realidad la base de la terapéutica de grandes poblaciones, debido a que esta vía facilita el manejo de la parvada y reduce costos y mortalidad por estrés. En el caso del pollo, generalmente los animales pueden dejar de comer, pero difícilmente dejan de beber.

b) Que se absorba a partir del tracto gastrointestinal; la biodisponibilidad de los antibacterianos comerciales es muy variable y fluctúa desde la cero biodisponibilidad para los aminoglicósidos hasta la biodisponibilidad del 90% o más para las fluoroquinolonas de tercera generación.

c) Que tenga una elevada eficacia antibacteriana contra patógenos Gram(+) y Gram (-) además de otros microorganismos.

d) Que tenga buena difusión a secreciones respiratorias.

e) Que sea poco tóxico, elevando así el margen de seguridad.

f) Que sea económico. (1,2,5,8)

Una variable esencial que debe considerar todo Veterinario dedicado a la producción, es la relación de costo-beneficio. Muchos de los criterios listados excepto el último, son llenados por otros medicamentos como es el caso de las fluoroquinolonas de tercera generación como la danofloxacin y la enrofloxacin (10).

A pesar de que en otros países se ha restringido el uso de los nitrofuranos, en Latinoamérica continúan siendo magníficas opciones antibacterianas. Los nitrofuranos han sido designados justificadamente como uno de los tres pilares básicos de la quimioterapia moderna, aunque ciertamente, han sido utilizados en el tratamiento de enfermedades en el hombre y en los animales domésticos aproximadamente desde hace cinco décadas. Aunque son completamente diferentes de los antibióticos o de las sulfonamidas, han probado ser poderosos agentes contra una amplia variedad de microbios atacando así a gérmenes Gram (-), algunos Gram (+), protozoarios y hongos al inhibir ciertas funciones metabólicas vitales de los organismos patógenos (13,20,27).

Los nitrofuranos son una serie de fármacos sintéticos derivados del furano, con un grupo nitro (NO_2) en la posición 5 del anillo heterocíclico, confiriendo así al compuesto un alto grado de actividad contra diversos gérmenes. Estructuralmente derivan de azúcares y es el único monosacárido con actividad antibacteriana útil en la clínica (13,19,24). Se pensaba que la molécula de los nitrofuranos podía ser modificada para producir una serie de fármacos con características únicas para desarrollar actividad en

campos bien definidos de las enfermedades infecciosas. Se descubrió más tarde que haciendo cambios adecuados en la "cadena lateral" de la molécula de los nitrofuranos se podían alterar las propiedades bactericidas y físicas de la sustancia y también su comportamiento biológico.

Por lo mismo, aunque los nitrofuranos pueden tener ciertas propiedades comunes, las variaciones en su molécula permiten impartirles características que son individuales para cada compuesto, haciendo que cada fármaco derivado de la estructura básica se comporte como una entidad con propiedades únicas y las diferencias de acción de los preparados se refieren a su absorción y excreción, permitiendo así su utilización ventajosa en áreas bien definidas de la medicina veterinaria (23). Hasta ahora se han sintetizado y estudiado alrededor de 1200 nitrofuranos, pero sólo unos pocos están en uso, porque reúnen las cualidades que se buscaban en estos compuestos.

Según los cambios ejercidos sobre el núcleo furánico original podemos citar algunos ejemplos de los nitrofuranos que se emplean en medicina veterinaria:

+ Furalfadona	(Altafur o Valsyn)
+ Nitrofurazona	(Furacin)
+ Nitrofurantoina	(Furadantin)
+ Nifuraldeazona	(Furamazona)
+ Nifurpirinol	(Furanace)
+ Furazolidona	(Furoxona)
+ Nitrovina	(Nitrovin)

La mayor parte de los nitrofuranos son compuestos que se presentan en forma de cristales amarillentos, con escasa o nula solubilidad en agua, excepto la furaltadona. Son termoestables, degradables por la luz ordinaria y fluorescentes por lo que deben conservarse en frascos oscuros. Son bactericidas más que bacteriostáticos. Su mecanismo de acción se basa en la destrucción por inhibición del metabolismo enzimático de los hidratos de carbono en las bacterias (13,27). También interfieren en la síntesis de la pared celular de las bacterias en forma semejante a la penicilina, pero ésta teoría todavía requiere de confirmación. Además suprimen la división mitótica y rompen los cromosomas evitando así la presentación de metafases, pero hay que tener en cuenta que a concentraciones terapéuticas no interfieren con la fagocitosis (13). No alteran prácticamente a las células de los mamíferos o aves y, por consiguiente, algunas referencias mencionan que su toxicidad es baja o nula (7,13), mientras que otros autores dicen que son muy tóxicos y las manifestaciones de toxicidad son tan amplias que abarcan prácticamente todos los órganos y sistemas (5,19). Aunque se ha mencionado en repetidas ocasiones que los nitrofuranos son tóxicos para el pollo, este efecto solo se ha detectado para algunos nitrofuranos como la furazolidona y únicamente a dosis elevadas o por mucho tiempo (27). La toxicidad de los nitrofuranos (furazolidona y nitrofurazona) sólo está probada en patos y pavos (7), y no se han publicado datos concretos de toxicidad de la furaltadona en pollos.

Hay diferencias entre autores ya que unos mencionan que la actividad de los nitrofuranos no es interferida por la presencia de fluidos orgánicos como sangre, suero, leche o pus (7,13), mientras

que otros mencionan que la actividad antimicrobiana si disminuye en presencia de alguno de los fluidos o exudados antes mencionados (19,27). En cuanto a la farmacocinética los nitrofuranos no se deben administrar parenteralmente, salvo en contadas ocasiones, cuando se utiliza esta vía son demasiado tóxicos. En contraste la nitrofurantoina y la furaltadona alcanzan niveles sistémicos importantes por lo que se les administra por vía oral para el tratamiento de algunos padecimientos infecciosos pulmonares y urinarios. La biotransformación de los nitrofuranos que se absorben ha sido poco estudiada, pero los datos sugieren que ésta no es completa. La excreción es por vía urinaria, el resto se excreta por vía fecal (23).

Al parecer, la persistencia de los nitrofuranos como elección antibacteriana en la industria avícola moderna se fundamenta en la baja inducción de resistencias y en su relación aparentemente favorable de costo-beneficio. Este factor es de gran importancia para la avicultura moderna, en la que se lleva una tendencia congruente de optimización de recursos, sobre todo cuando se recibe pollo contaminado verticalmente con Mycoplasma sp, el cual exige un manejo más cuidadoso así como una medicación más intensa.

Tal es el caso de las llamadas reacciones posvacunales en las que se agravan los problemas infecciosos de este tipo por la exigencia orgánica (9,22,25). La furazolidona y la furaltadona son los dos nitrofuranos más comúnmente usados en la industria avícola, pues son considerados fármacos de elección para prevenir o curar enfermedades como el complejo de la ERCC, la pullorosis, tifoidea aviar, las infecciones paratifoideas y la hepatitis infecciosa entre otras. Es evidente que su uso resultaría más eficaz si se pudiera aumentar su concentración en sitios estratégicos v.g., los pulmones.

La furaltadona es un derivado del anillo de furano al cual se le ha añadido en la "cadena lateral" un nuevo anillo heterocíclico, la norfolina (Figura 1). Tiene actividad bactericida y se absorbe bien por el tracto gastrointestinal (13,23), proporcionando niveles sanguíneos útiles como para emplearse en la quimioterapia de infecciones generales (27). La distribución del metabolito del fármaco no es muy conocida, además de que son pocos los que aparecen en la orina. La solubilidad de los nitrofuranos en agua se incrementa en soluciones alcalinas, mientras que la furaltadona aumenta su solubilidad en soluciones dando lugar a la formación de sales solubles.

Los efectos tóxicos que se han observado en humanos se presentan después de la administración oral de la furaltadona. En medicina veterinaria se tienen reportes de su uso en aves, equinos y bovinos (27); experimentalmente este fármaco se ha utilizado exitosamente en el tratamiento de pollos infectados con Salmonella gallinarum o

Salmonella typhimurium. A concentraciones de 0.04% en el agua de bebida previene la mortalidad y no permite un alto número de portadores. Los pollos experimentalmente infectados con Mycoplasma gallisepticum presentan pocas lesiones y no muy grandes después del tratamiento con furaltadona. Si se administra en el agua de bebida a dosis de 1g/3.785 l es muy efectiva para el control de sinovitis en pollos (13).

Debido a que en la mayor parte de las enfermedades respiratorias se presenta un incremento en la producción de moco, se requiere de la administración de agentes expectorantes y mucocinéticos ya que la extracción eficaz de las mucosidades de las vías respiratorias precisa cilios sanos, volúmenes adecuados de secreciones del aparato respiratorio y tos funcional; muchos estados patológicos respiratorios causan trastornos de estos factores, fomentando la retención y viscosidad de las mucosidades en el tracto respiratorio.

En estos desórdenes se han usado diferentes agentes farmacológicos con el fin de movilizar y evacuar eficazmente los exudados que entorpecen la ventilación. En el caso particular de la ERCC resulta especialmente conveniente la asociación de un agente mucolítico con un nitrofurano como la furaltadona.

La utilidad clínica de los agentes mucocinéticos sigue sin definirse principalmente por carecerse de métodos fidedignos para cuantificar y evaluar la naturaleza de las secreciones traqueobronquiales durante el tratamiento. Existen varias maneras de modificar y movilizar las secreciones traqueobronquiales, tales como las que se mencionan a continuación:

- a) Disminuir la cantidad y viscosidad de las mucosidades.
- b) Aumentar la hidratación de las mucosidades.
- c) Aumentar la motilidad de los cilios.

Estos efectos pueden lograrse mediante una acción local directa sobre las células epiteliales traqueobronquiales y las glándulas tubuloacinares submucosales.

Los agentes expectorantes o mucocinéticos se administran por vía oral, parenteral o por inhalación (vaporización o nebulización) (14,19). Debido a la diversidad de patologías que se presentan en las vías respiratorias y dependiendo de la presentación de cada una de éstas, se puede utilizar alguno de los siguientes tipos de agentes expectorantes o mucolíticos:

1. **Diluentes mucocinéticos:** estas sustancias diluyen las mucosidades de las vías respiratorias después de su administración mediante una vía sistémica o por aerosoles. La deshidratación es común en pacientes con enfermedad pulmonar, en este estado hay dificultad para

evacuar las secreciones de las vías respiratorias. Por eso la rehidratación es esencial para un tratamiento expectorante eficaz.

2. Fármacos broncomucotrópicos (expectorantes): estos fármacos aumentan el volumen y fluidez de las secreciones en la mucosa de las vías respiratorias. Probablemente los modos de acción se basan en el estímulo de el reflejo del centro vagal, las fibras colinérgicas terminales o directamente en las glándulas submucosales. Se utilizan distintas clases de agentes broncomucotrópicos.

3. Aceites volátiles aromáticos, esteroptenos y bálsamos: muchos de los expectorantes tradicionales son aceites volátiles o sus derivados y bálsamos que contienen resinas. Estos agentes probablemente estimulan las glándulas traqueobronquiales en forma directa y producen una hiperemia activa en el árbol bronquial.

4. Expectorantes secretorios: diversas sales inorgánicas y orgánicas (expectorantes salinos) parecen estimular el reflejo vagal gastropulmonar con la activación subsiguiente de las glándulas bronquiales submucosales.

5. Expectorantes mucolíticos: los mucolíticos son sustancias que interfieren con la integridad estructural, alterando la viscosidad de los componentes de las secreciones mucoides o purulentas de las vías respiratorias y favoreciendo su expulsión mediante el escalador mucociliar. Los mecanismos generalmente involucrados son la despolimerización de las moléculas glucoproteicas o la hidrólisis de proteínas o fibras nucleoproteicas.

Los aceleradores de cilios son sustancias que aumentan, directa o indirectamente, la frecuencia de movimiento ciliar de las vías respiratorias. Aún no se han definido los mecanismos exactos involucrados (14,19).

Uno de los agentes que se ha utilizado con éxito para disminuir la severidad de las infecciones de las vías respiratorias, que se ha puesto en práctica en Europa es un mucolítico denominado clorhidrato de bromhexina que se ha administrado en el agua de bebida en concentraciones variables que llegan hasta el 1%. Al menos de manera teórica, la bromhexina tiene la función de disminuir la viscosidad y la adhesividad del moco, haciéndolo más fácil de expulsar con la expectoración, evitando la formación de un tapón de moco que asfixie al animal disminuyendo así la capacidad obstructiva (6,26). Se ha postulado que uno de los principales mecanismos de acción para lograr este efecto, es aumentando el ingreso de agua al compartimiento traqueobronquial, además de romper algunos enlaces disulfuro del glicosaminoglicano base del moco (6,25). El aumento en

el ingreso de agua acarrea por consecuencia una cantidad adicional de antibacteriano disuelto en el plasma mejorando así su eficacia, sin aumentar su toxicidad (6).

Es posible pensar que la bromhexina tiene la capacidad de aumentar la penetración de antibióticos a las secreciones del árbol respiratorio (6,17,18). Si esta supuesta capacidad es corroborada, podría modificar la perspectiva que se tiene de muchos antimicrobianos sin aumentar su toxicidad. Esto es de particular importancia para agentes tradicionalmente económicos como la furaltadona (27), que tiene una buena absorción y distribución en epitelio mucoso.

Otro producto de gran utilidad en medicina humana que se utiliza desde la década de los sesentas es un mucolítico de elevada eficacia, el cual se usa para efectos mucolíticos y del que se dice también que aumenta la penetración de antibacterianos al árbol respiratorio, es el clorhidrato de ambroxol (4,16,18). El ambroxol es un metabolito de la bromhexina y su acción es similar (12).

Entre las propiedades principales de este fármaco destacan la estimulación de la producción de un surfactante. Tiene acción expectorante y mucolítica, además incrementa la frecuencia vibratoria del epitelio ciliar. Induce el aumento de las inmunoglobulinas en el epitelio respiratorio favoreciendo el incremento de la concentración de antibióticos en el tejido broncopulmonar (4,12,18).

En cuanto al mecanismo de acción del ambroxol, las acciones globales de este fármaco se perciben en la disminución de la adhesividad y viscosidad de las secreciones respiratorias. Ambos efectos se traducen en una expectoración más fácil. También se argumenta que el ambroxol logra aumentar las concentraciones de algunos antibióticos en las secreciones bronquiales e incluso de anticuerpos. Aún no se conoce con precisión la manera en que todos estos efectos son logrados pero se especula que dependen directamente de la fragmentación de la glicoproteína esencial del moco, aumentando así la cinética de intercambio de fluidos a dicho nivel; esto es aumentando el volumen de secreciones fluidas (4,12,16).

El clorhidrato de ambroxol está indicado en todo tipo de procesos broncopulmonares que cursan con aumento de la viscosidad y la adherencia del moco, en las que es necesario mantener libre de secreciones el aparato respiratorio como son la bronquitis aguda, bronquitis crónica, bronquitis asmátiforme, bronquitis espasmódica, asma bronquial, rinitis, sinusitis, neumonías y bronconeumonía (18). No se conocen interacciones indeseables con sustancias medicamentosas (11). Este producto no se ha evaluado en medicina veterinaria por lo que se desconoce su capacidad mucolítica en pollos.

Si se toma en cuenta el beneficio derivado de promover el ingreso de antibióticos al árbol respiratorio al tiempo en que se logra un efecto mucolítico o de fluidificación de moco, entonces se verá la utilidad de llevar a cabo en el caso particular de la ERCC la asociación de un agente mucolítico como el ambroxol o la bromhexina

con un nitrofurano como la furaltadona. Por tal razón se consideró de utilidad evaluar a la furaltadona sola, y a las mezclas de ambroxol-furaltadona y bromhexina-furaltadona para el tratamiento de esta enfermedad en pollos de trece a quince días de edad.

HIPOTESIS

La bromhexina y el ambroxol disminuyen la viscosidad del moco traqueobronquial y promueven la penetración de la furaltadona en pollos de trece a quince días de edad previamente vacunados contra la enfermedad de Newcastle y que padecen de enfermedad respiratoria crónica complicada.

OBJETIVO

Evaluar el efecto de la bromhexina y el ambroxol en la disminución de la viscosidad del moco traqueobronquial y en la penetración de la furaltadona en pollos de trece a quince días de edad previamente vacunados contra la enfermedad de Newcastle y que padecen de enfermedad respiratoria crónica complicada.

MATERIAL Y METODOS

1. Preparación del material biológico.

Se utilizaron 100 pollos de trece días de edad de la línea Arbor-Acres afectados de un brote de ERCC con Escherichia coli, diagnosticando el brote por antecedentes serológicos de las progenitoras mediante la prueba de hemoaglutinación (B,24) y por aislamiento de la cepa de Escherichia coli patógena, así como por los hallazgos a la necropsia y los datos clínicos de las aves. Lo anterior se realizó en un laboratorio privado al cual se enviaron las muestras por parte de la granja para corroborar el diagnóstico.

Los pollos provenían del Centro de Producción Avícola "LA PENA DE MORELOS", Unidad El Real. (Centro de Producción y Capacitación para Alumnos de Educación Media Superior del Centro Agropecuario Experimental El Peñón). Se les vacunó el día 11 de edad contra la enfermedad de Newcastle en la misma granja y se enviaron a uno de los laboratorios del Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. al siguiente día.

Al llegar los pollos de la granja, se les alojó en las coprefasas previamente preparadas con la cama, alimento y agua, y se les puso un foco de 100 watts para controlar la temperatura; se les dejó reposar todo ese día debido al estrés que tuvieron durante la

transportación. Se les empezó a medicar a partir del día trece de edad hasta el décimo quinto día de edad de los pollos.

Los 100 pollos se dividieron aleatoriamente en cinco grupos de 20 pollitos cada uno, los cuales fueron tratados durante tres días en el agua de bebida de la siguiente manera:

- + GRUPO 1: Bromhexina 1.5 ppm y furaltadona 265 ppm.
- + GRUPO 2: Bromhexina 3 ppm y furaltadona 265 ppm.
- + GRUPO 3: Ambroxol 1.5 ppm y furaltadona 265 ppm.
- + GRUPO 4: Ambroxol 3 ppm y furaltadona 265 ppm
- + GRUPO 5: Furaltadona 265 ppm.

Los pollos se alojaron en cajas para animales de laboratorio de .70 x .50 cm, con una tapadera de malla de alambre galvanizado bajo las siguientes condiciones de manejo:

- + TEMPERATURA: Aproximada de 25°C +/- 0.5°C
- + HUMEDAD RELATIVA: Del 50% en promedio
- + CAMA: De aserrin la cual se cambiaba una vez al día
- + ALIMENTACION: Con un concentrado comercial
- + DENSIDAD DE POBLACION: 20 pollos por caja
- + AGUA: Potable ad libitum, suministrada en cuatro bebederos.

Tomando en cuenta que el consumo mínimo de agua/día/pollo, en la segunda semana de edad es de 60 ml/pollo, se preparó diariamente a temprana hora el agua de bebida con los medicamentos en las diferentes concentraciones según el grupo correspondiente, tomando en cuenta que la dosis recomendada en los fármacos anteriores es de 1g/l, se hizo una solución con 1.5g/l por lo que la dosis individual utilizada fue de 15.9 ml/ave/día.

2. Obtención de muestras.

Al décimo sexto día de edad se anestesiaron con pentobarbital sódico y luego se sacrificaron con guillotina, cortando entre las primeras vértebras cervicales, extrayendo rápidamente tráquea y bronquios primarios hasta su inserción más distal en pulmones. Se lavó el contenido con flujo positivo y negativo con 1 ml de solución salina estéril y posteriormente se escurrió perfectamente la tráquea para obtener el contenido traqueal y bronquial. Para la determinación de la viscosidad se utilizó directamente la muestra obtenida, mientras que para la determinación de la concentración del antibiótico se separaron 100 μ l de muestra y se colocaron a -20°C hasta su utilización.

3. Determinación de la viscosidad.

Se utilizó un viscosímetro de Oswald para determinar la viscosidad relativa del moco en centipoises (cp). Las muestras se homogenizaron en un vortex y el contenido aproximadamente de 1.5 ml se introdujo al viscosímetro. Como parámetro se consideró la viscosidad del agua medida en el mismo viscosímetro, con lo que se obtuvo una equivalencia de 1 cp = 74 seg. Los resultados se sometieron a un análisis de varianza para determinar si existían diferencias de viscosidad en las muestras traqueobronquiales.

4. Determinación de la concentración del antibiótico por el método de Bennett et. al. (3).

Para la determinación de la concentración del antibiótico en las muestras se utilizó el método de valoración microbiológica adaptado del procedimiento establecido por Bennett et. al. (3) mediante pruebas de difusión en agar, y modificado de acuerdo al material y equipo disponible en nuestro país. En primer término se estandarizaron las combinaciones de los quimioterapéuticos bromhexina + furaltadona, ambroxol + furaltadona y furaltadona sola a diferentes concentraciones.

Para poder llevar a cabo este método se tuvieron que realizar los siguientes pasos:

- A) Obtención de la cepa estándar a utilizar
- B) Estandarización de la prueba
 - i. Preparación del material
 - ii. Preparación de las placas de agar
 - iii. Preparación del fármaco y sus combinaciones con ambroxol y bromhexina
 - iv. Aplicación de las preparaciones del quimioterapéutico
- C) Análisis de las muestras
- D) Lectura de los halos de inhibición

A) Obtención de la cepa estándar a utilizar.

Antes que empezar con cualquier procedimiento de este método se debe de probar la susceptibilidad de la E. coli a los diferentes quimioterapéuticos y esto se logró utilizando una cepa del microorganismo mantenida en leche descremada estéril a -20°C , en el laboratorio de bacteriología y microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. Esta suspensión bacteriana fué descongelada y homogeneizada y posteriormente se agregó 0.25 ml en Caldo Infusión Cerebro Corazón (CICC), siendo incubada a 37°C durante dos horas para estimular su crecimiento. Después de este tiempo se verificó su crecimiento y se resembró nuevamente en una caja de petri con medio de cultivo selectivo y diferencial verde brillante, y éste se incubó a 37°C durante 24

horas. Una vez cumplido este tiempo se estandarizó el inóculo con el Nefelómetro de Mac Farland al 0.5% (5×10^8 UFC/ml)* en SSF para efectuar el antibiograma correspondiente (21).

Se sembró en una caja petri con agar Muller-Hinton realizando un antibiograma con tres sensidiscos impregnados cada uno con la sol. inic. elaborada a partir de 2.5 ml de agua destilada estéril con 1 mg de cada una de las combinaciones del quimioterapéutico, es decir, bromhexina-furaltadona, ambroxol-furaltadona, y de la furaltadona sola. Después de 24 h de incubación a 37°C, se observó notablemente la formación de un halo de inhibición bastante considerable alrededor de cada uno de los sensidiscos, procediéndose a hacer ya las diluciones necesarias para poder estandarizar a los fármacos.

Tanto para la estandarización como a todo lo largo del análisis de las muestras en la prueba se utilizaron cultivos jóvenes (24 h) de E. coli sembrados en verde brillante e incubados a 37°C.

B) Estandarización de la prueba.

Para obtener la solución inicial de cada una de las combinaciones del quimioterapéutico, así como del mismo, se diluyó en 2.5 ml de agua destilada estéril 1mg de cada uno de los quimioterapéuticos.

* UFC= unidad formadora de colonia

A partir de la solución inicial se realizaron 15 diluciones dobles de cada fármaco a estandarizar pipeteando siete veces entre cada una para homogenizar la dilución utilizándose un volumen final (v.f.) de 1 ml, a partir de una concentración de 53 μ g/ml y terminando con 0.003 μ g/ml.

1. Preparación del material.

Todo el material utilizado se esterilizó previamente. Se utilizaron refractarios de vidrio resistentes al calor (pyrex) de 0.22 x 0.22 cm y 5 cm de altura cuyo borde superior es esmerilado, sometidos a un estricto lavado de agua con jabón y desengrasados con alcohol al 70% una vez que habían secado. Después eran sellados con dos capas de plástico de silicón (ega-pack), que se adhiere perfectamente a las paredes del refractario, y se fijaba éste con unos pequeños pedazos de cinta autoadherible, posteriormente son envueltos para facilitar su esterilización en autoclave, ya que de no ser así, con la temperatura (121°C) y la presión (15 lb) alcanzadas durante este proceso, por la humedad adquirida en el espacio entre el plástico y el fondo del pyrex se colapsaba éste y quedaba el riesgo de no estar completamente esterilizado.

Se utilizaron los siguientes medios: Caldo Infusión Cerebro-Corazón (CICC), para la estandarización del inóculo y agar Müller-Hinton (M-H) para la preparación de las placas para difusión. Ambos fueron preparados de acuerdo a las indicaciones del producto, y esterilizados en autoclave (121°C/15 lb/15 min).

ii. Preparación de las placas de agar.

Para preparar el inóculo estándar de un cultivo joven de E.coli en verde brillante, se resiembró en un tubo con 4 ml de CICC, se homogeniza perfectamente y se estandariza en el espectrofotómetro de Bausch & Lomb, hasta alcanzar una lectura de 1.5 de absorbancia al utilizar un filtro para medir la longitud de onda con luz visible de 560 nm, lo cual corresponde a 187.5×10^7 UFC/ml.*

Se toman 2 ml del inóculo estándar y se agregan a los 250 ml del agar M-H, lo que determina una concentración final bacteriana utilizada de 7.5×10^6 UFC/ml, (concentración adecuada para un homogéneo crecimiento bacteriano en el agar y la obtención de adecuados halos de inhibición a pequeñas concentraciones de antibiótico), esto se lleva a cabo cuando el medio se encuentra tibio. Se mezcla hasta quedar lo mejor homogenizado posible y se vacía en la placa de vidrio teniendo las precauciones de mantener un ambiente estéril con 2 ó 3 mecheros encendidos lo más cercanos posible en un cuarto cerrado. Se debe de tener cuidado de no dejar

* Nefelómetro de Mc Farland al 0.5% equivalente a 5×10^7 UFC/ml que corresponde a una absorbancia de 0.04

burbujas de aire en el agar y de que el medio no esté muy caliente para evitar condensación del vapor de agua al cerrar nuevamente el refractario y que en consecuencia se pueda presentar una alteración en el crecimiento bacteriano, por lo que se tapa la placa colocando dos capas de plástico autoadherible de tal forma que cierra herméticamente. Se deja solidificar en una superficie plana para que el medio quede de un grosor parejo, aproximadamente unas 2 hs.

En el transcurso de este tiempo se prepara el material a utilizar durante el proceso de perforación del medio, como es tener lo más cerca posible los mecheros, una hoja de papel cuadrada de 0.22 x 0.22 cm, dividida en una retícula distribuida en 30 espacios equidistantes de 3 cm uno de otro para que no haya intersección entre los halos de inhibición al realizar la lectura, un plumón marcador, un horadador de 4 mm de diámetro, una micropipeta y tips para la micropipeta principalmente.

iii. Preparación del fármaco y sus combinaciones con ambroxol y bromhexina.

Se utilizaron diluciones dobles de bromhexina-furaltadona, ambroxol-furaltadona y furaltadona sola en agua destilada estéril partiendo de una concentración de 53 $\mu\text{g/ml}$ hasta 0.003 $\mu\text{g/ml}$.

iv. Aplicación de las preparaciones del antibiótico.

Cuando el medio está solidificado, en un cuarto cerrado y con los mecheros encendidos se destapa el pyrex de un lado nada más cuidando de que no se contamine por ninguna parte, se coloca la hoja dividida en los 30 espacios marcados con un punto debajo del refractario y se procede a hacer unas perforaciones en cada espacio marcado con el habanador haciendo unos pozos de 0,4 cm de diámetro. Con una micropipeta se colocan 40 μ l/pozo de cada una de las diluciones de cada fármaco a estandarizar, teniendo cuidado de utilizar un tip en cada aplicación. Se debe de tener cuidado de identificar debidamente los refractarios pyrex verificando el fármaco colocado, y empezando en el pozo número uno con la dilución inicial o número uno. Ya que cada refractario tiene 30 pozos se pueden poner las diluciones preparadas de dos fármacos, por lo que a los 15 pozos restantes del segundo pyrex preparado se les dividió en tres grupos de cinco y se repartieron diluciones de cada fármaco al azar. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 h.

Al día siguiente se midieron los halos de inhibición de crecimiento bacteriano correspondientes a cada dilución aplicada en el agar inoculado con E. coli.

Se repite todo el procedimiento anterior cuatro veces y con el promedio de los resultados obtenidos de éstas se realiza una gráfica en papel semilogarítmico de concentración antibiótica contra halo de inhibición para cada preparación, obteniéndose así la línea estándar

para cada uno (Figura 2), contra las cuales han de compararse los resultados de los halos de inhibición obtenidos al realizar la prueba con los exudados traqueobronquiales de los pollos.

C) Análisis de las muestras.

El procedimiento realizado para el análisis de las muestras fué el mismo descrito para la estandarización de la prueba anteriormente, donde en lugar de aplicar las diluciones de los antibióticos en los pozos realizados en el agar M-H inoculado con E. coli (7.5×10^4 UFC/ml) fueron aplicados 40 μ l de cada muestra de exudado traqueobronquial de los diferentes grupos de pollos estudiados.

D) Lectura de los halos de inhibición.

El tiempo de incubación y la lectura de los resultados se realizó de igual forma a la descrita en la estandarización. La lectura se realiza después de 24 hs de incubación a 37 °C, midiendo con un vernier el diámetro de cada halo o zona de inhibición del crecimiento bacteriano.

5. Determinación de la concentración del antibiótico por el método de Jones, et. al.

Este método consiste en medir susceptibilidad bacteriana a quimioterapéuticos mediante el uso de microdiluciones y macrodiluciones de estos en caldo inoculado con bacterias (15). Este método también comprende varios pasos los cuales se describen a continuación, tal como se utilizaron:

A) Utilizar cultivos jóvenes de E. coli.

B) Esterilizar todo el material que se va a utilizar. Los medios de cultivo usados fueron Caldo para Antibióticos y CICC preparados de acuerdo con las indicaciones del producto, y esterilizados en autoclave (121°C/15 lb/ 15 min).

C) Hacer una solución inicial de los antibióticos en la cual la primera va a ser la misma utilizada en el método anterior.

D) Realizar 20 diluciones dobles en caldo para antibióticos de cada fármaco a partir de la solución inicial de 53 µg/ml hasta 0.003 µg/ml utilizando un v.f. de 2 ml/tubo.

E) Preparar el inóculo inicial de E.coli en CICC a partir de un cultivo joven, ajustando la concentración bacteriana en el espectrofotómetro con un filtro de 560 nm de longitud de onda a 0.04 de absorbancia 5×10^8 UFC/ml).

F) Realizar una dilución 1/200 del inóculo inicial en CICC (inóculo estándar).

G) Agregar 2 ml del inóculo estándar a cada tubo con antibiótico.

H) Dejar un tubo control sin antibiótico compuesto por 2 ml de caldo para antibiótico + 2 ml del inóculo estándar.

I) Dejar un tubo control de CICC sin inóculo ni antibióticos.

J) Incubar a 37°C por 18 hs.

K) Hacer la lectura, determinando la mínima concentración inhibitoria (MIC) por el grado de turbidez en forma visual y con el espectrofotómetro, con un filtro de 560 nm de longitud de onda. Se realizó la lectura de los tubos controles para utilizarse como parámetros.

RESULTADOS

En todas las aves se presentaron signos de expectoración y estornudo características propias de la ERCC. Los animales se medicaron durante 3 días con el antimicrobiano y sus diferentes combinaciones con la bromhexina y el ambroxol; el sacrificio de los animales se llevó a cabo por medio de una inyección de pentobarbital sódico siendo posteriormente degollados obteniéndose en todos los casos una imagen del estado del contenido traqueal que se resume en el cuadro 1.

En este cuadro se puede apreciar que al menos macroscópicamente el moco de los animales tratados con ambroxol-furaltadona a 3 ppm (Gpo 4) presentó un aspecto totalmente fluido sin partículas sólidas e incluso se notó escurrimiento nasal al manipular a los animales. Este mismo fenómeno no se presentó en ningún otro grupo. Los pollos tratados con ambroxol-furaltadona a 1.5 ppm (Gpo 3) presentaron en general un moco suave y poco consistente pero sin llegar a ser tan diluido para que hubiera escurrimiento durante el manejo de los animales. En los animales tratados con bromhexina-furaltadona a 1.5 ppm (Gpo 1) se presentó un moco muy variado ya que algunos presentaban un moco mas suave y otros un moco mas consistente sin presentar en ningún momento alguna uniformidad. En los pollos tratados con bromhexina-furaltadona a 3 ppm (Gpo 2) se observó un moco consistente y uniforme; mientras que en los animales tratados con furaltadona sola (Gpo 5) a pesar de presentar un moco

consistente, en general, era muy aparente la presencia de partículas sólidas las cuales por su consistencia formaban tapones de moco los cuales disminuían la ventilación de las vías respiratorias.

En cuanto al grupo de ambroxol-furaltadona y al de bromhexina-furaltadona en general, sí se observaron resultados variados ya que el primero no presentó partículas sólidas y el segundo sí. Se evaluó la viscosidad del moco de manera comparativa con el agua obteniéndose los resultados individuales los cuales se encuentran referidos en el cuadro 2. Los promedios de los mismos se encuentran en el cuadro 3.

El análisis de varianza muestra que no existe una diferencia significativa entre los grupos 2, 3 y 5, pero sí se obtuvieron diferencias significativas entre el grupo 1 y 4, ($P < 0.05$) siendo el grupo 4 el que mayor viscosidad presentó. Las diferencias entre el grupo 1 con respecto al 2, 3 y 5 fueron significativas únicamente a nivel del 90% (Figura 3 y 4).

Se establecieron estándares para la determinación de furaltadona mediante el método de Bennett et. al. (3), obteniéndose una relación lineal entre niveles de 53.4g y de 0.0034g como se muestra en la figura 2. No se obtuvo difusión del antimicrobiano a partir de las muestras de moco, por lo que se recurrió al método de Jones et. al. (15) en el cual se obtuvo una curva de concentración sin confiabilidad, debido a la variabilidad que presentaban los resultados obtenidos en los que había un ligero crecimiento de

bacterias en unos tubos (0.1 de absorbancia) y en otros se disparaban los resultados a concentraciones bacterianas muy altas (1.5 de absorbancia) en forma alternada.

D I S C U S I O N

La ERCC es una entidad que puede considerarse como la enfermedad avícola de mayor presentación a nivel nacional, y por ende es una de las principales causas de pérdidas económicas en dicha industria. La patogenicidad de las diferentes cepas de E. coli dan lugar a una gran cantidad de cuadros desde el moderado hasta el agudo y severo (9,22,25). De cualquier forma se necesita medicar a los pollos para reducir la mortalidad que generalmente ocurre por una mezcla de asfixia con un cuadro septicémico. Durante el proceso de medicación se procura un balance entre los beneficios y el costo. Existen informes de antimicrobianos de costo elevado como la danofloxacina que resultan eficaces para disminuir las pérdidas por esta patología, pero es a menudo discutible la relación costo-beneficio. En este sentido los nitrofuranos se han destacado por ser eficaces y mantener dicha eficacia a lo largo de varias décadas por su poca tendencia a inducir resistencia bacteriana (13). No obstante son compuestos relativamente económicos y en especial la furaltadona ha sido empleada rutinariamente por su solubilidad en agua.

Uno de los puntos claves en el tratamiento de la ERCC es evitar la formación de un moco denso que impida la ventilación de las vías respiratorias altas de los animales. Es evidente que el antimicrobiano por sí solo no altera notablemente la viscosidad ni la cantidad del moco secretado. En este sentido se ha recomendado el uso de algunos agentes mucolíticos, de manera similar al efecto

aditivo que muestran estos asociados a antimicrobianos en humanos en enfermedades respiratorias (14,19). Sin embargo, hasta hace poco los mucolíticos utilizados tenían poca eficacia clínica y se resolvía el problema de la viscosidad, aumentando la cantidad de humedad en la caseta y disminuyendo la cantidad de amoníaco. Recientemente se introdujo a la farmacología veterinaria la bromhexina cuyos efectos mucolíticos han sido ponderados en otros ensayos (6,26). Su metabolito, el ambroxol, tiene propiedades mucolíticas excelentes, por lo que se ha situado solidamente en el mercado humano y en este ensayo se ha realizado quizá el primer intento de introducir este producto a la línea veterinaria en particular para fluidificar el moco en la ERCC.

De acuerdo a los promedios obtenidos en la prueba de viscosidad del moco en cada grupo con las diferentes combinaciones de los quimioterapéuticos se puede observar que en el grupo 1 tratado con bromhexina a 1.5 ppm y furaltadona a 265 ppm tardó en promedio menos tiempo en pasar el moco por el viscosímetro de Oswald. En cuanto al grupo 2, tratado con bromhexina 3 ppm + furaltadona 265 ppm y el grupo 3 tratado con ambroxol 1.5 ppm + furaltadona 265 ppm, se obtuvieron resultados muy semejantes, por lo que cabe considerar que a menor concentración el ambroxol actúa dando una mejor fluidificación del moco a diferencia de la bromhexina, ya que ésta requirió de el doble de la concentración del mucolítico para obtener casi los mismos resultados.

En cuanto al promedio de la viscosidad del moco obtenida entre el grupo 2 y el grupo 3 se obtuvieron resultados muy similares con poca

diferencia con relación al promedio en cp obtenido en el grupo 5 de pollos tratados con furaltadona a 265 ppm. En este sentido los resultados pudieran implicar a simple vista que existe una contradicción entre la notoria fluidez del moco en el grupo 4 tratado con ambroxol a 3 ppm y furaltadona a 265 ppm y los valores en centipoises obtenidos. Sin embargo, se interpretan los resultados obtenidos de la siguiente manera: el moco esta constituido por proteínas ligadas con carbohidratos denominados glicosaminoglicanos o también sialoproteínas por contener ácido siálico (14,19). Si una buena proporción de estas proteínas se encuentra constituyendo un tapón de material mucoso como los observados en los grupos 1, 2, 3 y 5 es evidente que en esta proporción no podían contribuir a la viscosidad de la parte fluida del moco traqueal ya que fué esta última la que se midió con el viscosímetro de Oswald. En otras palabras la mayor viscosidad del moco en el grupo 4 tratado con ambroxol a 3 ppm y furaltadona a 265 ppm refleja la ausencia de tapones mucosos sólidos y por ello se manifiesta claramente un escurrimiento en los pollos al manejarlos.

Por otro lado, se obtuvieron nulos resultados con el método de Bennet et. al. (3) para moco. Es bien probable que esto se deba a la poca capacidad de difusión del moco en el agar y quizá a que estas proteínas ligan de alguna forma a los nitrofuranos o a la dificultad del antibiótico atrapado en el moco de difundir a través de éste. Se intento la extracción del antibiótico en la Facultad de Química, mediante un proceso de centrifugación utilizando diferentes constantes, en alguna de las cuales si se llegó a obtener una

sedimentación del moco, no obstante no se obtuvieron resultados satisfactorios al ser nuevamente analizados.

Lo anterior puede explicarse debido a que en la pequeña cantidad de muestra destinada para las prueba de determinación de concentración de fármaco en el fluido (100 μ l), la posible cantidad del quimioterapéutico presente en la misma detectable (mediante la prueba de difusión en agar estandarizada en la presente investigación) podría perderse durante los diferentes pasos en diversos procesos de extracción del quimioterapéutico en el moco tales como centrifugación diferencial, aplicación de químicos mucolíticos, o diálisis entre otros. Por ello no resulta incongruente concluir que ésta técnica sólo puede usarse fácilmente para pruebas de orina o suero en las que el vehículo es acuoso.

Es importante hacer notar, sin embargo, que a pesar de no haberse podido evaluar la concentración de la furaltadona en las muestras, los hallazgos obtenidos durante la estandarización (in vitro) indican una mayor eficacia de la acción antibacteriana de la furaltadona cuando ésta fue aplicada con los agentes mucolíticos (Figura 2), al obtenerse halos de inhibición del crecimiento bacteriano de mayor tamaño cuando se utilizaron las combinaciones quimioterapéutico-mucolítico en relación a aquéllos obtenidos cuando se utilizó la furaltadona sola todos ellos a una concentración dada, así como al hecho de que pudieron observarse halos de inhibición en pequeña concentración del quimioterapéutico únicamente cuando se aplicó en combinación con los agentes mucolíticos. Asimismo, esto es

importante ya que la furaltadona sola aparenta tener un efecto mucolítico por sí sola, es decir, que por algún motivo llegó a fluidificar más el moco de los animales en comparación con los grupos tratados con bromhexina 1.5 ppm + furaltadona 265 ppm, bromhexina 3 ppm + furaltadona 265 ppm y ambroxol 1.5 ppm + furaltadona 265 ppm. Respecto al grupo tratado con ambroxol 3 ppm + furaltadona 265 ppm los promedios obtenidos durante la medición de la viscosidad del moco demuestran que fue el grupo con más alto promedio de valores obtenidos. Al analizar comparativamente los resultados obtenidos entre los grupos tratados con bromhexina + furaltadona y ambroxol + furaltadona (con sus respectivas concentraciones), se puede afirmar que la combinación mucolítico - furaltadona con la que mejores resultados se obtuvieron en cuanto a la fluidificación de moco fue la de la mezcla ambroxol 3 ppm + furaltadona 265 ppm.

Considerando la acción lítica de la bromhexina y el ambroxol sobre las secreciones mucosas del tracto respiratorio es probable que los efectos anteriormente descritos sean debidos a que estos agentes tengan un efecto similar sobre el agar, permitiendo así una mayor penetración de la furaltadona en el mismo y, en consecuencia, un mayor efecto antibacteriano, lo cual apoya la hipótesis planteada en el presente trabajo.

Aunque fuera de protocolo, se intentó evaluar la concentración de furaltadona en el moco de los pollos de éste ensayo, no se lograron resultados congruentes ni una tendencia clara que permitiera elaborar un juicio acerca de las concentraciones del agente

quimioterapèutico en este espacio. Sin embargo, de acuerdo a los resultados observados en el método de susceptibilidad a quimioterapèuticos mediante macrodiluciones se obtuvieron evidencias suficientes indicativas de que habia furaltadona en las muestras de moco, ya que se observaron en algunas diluciones crecimiento bacteriano y en otras inhibición del mismo, no siguiendo un patrón de las diluciones del quimioterapèutico que se habia fijado llegando a medirse en el espectrofotómetro niveles de absorbancia muy dispares y alternados, por lo que se resume que mediante las pruebas no pudo detectarse diferencia por la ausencia del quimioterapèutico. Quizá resulte de interés intentar una tecnología química para determinar las concentraciones del nitrofurano.

En términos generales se puede concluir en esta tesis que el ambroxol representa muy probablemente una nueva opción mucolítica para la avicultura, debido a la mayor potencia de éste, además de la ventaja económica que representa, puesto que el clorhidrato de ambroxol resulta una tercera parte más barata que su análogo el clorhidrato de bromhexina, lo que se traduce en una excelente opción farmacológica con mayor beneficio con relación al costo. No obstante sería deseable confirmar que al igual que en humanos el producto no es tóxico y que se elimina con relativa facilidad sin dejar residuos. De cualquier forma, como se aplica en las primeras etapas de vida del pollo, esta última observación da ó cierto carácter económico.

En este ensayo se ha establecido una técnica simple y aparentemente confiable para determinar la eficiencia de un agente mucolítico, y aunque se ha probado con nitrofuranos es bien probable que brinde resultados similares e incluso superiores con otros agentes bacterianos.

L I T E R A T U R A C I T A D A

- 1.- Baggot, J.D.: Distribution of antimicrobial agents in normal and diseased animals. J. Anim. Sci., 176: 1085-1090. (1980)
- 2.- Baggot, J.D.: Principles of drug disposition in domestic animals. The basis of Veterinary Clinical Pharmacology. 1st ed. W.B. Saunder Co. Philadelphia. 1977
- 3.- Bennett, J.V., Brodie, J.L., Benner, E.J. and Kirby, W.M.M.: Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. Appl. Microbiol., 14: 170-177 (1966)
- 4.- Bertoli, L.: Action of ambroxol on mucociliary clearance. Int Pulmonary surfactant systems. Edited by Cosmi E.U. and Scarpelli, E.M. pp. 349-360. Elsevier, Holland. 1983
- 5.- Brander, G.G., Pugh, D.M. and Bywater, R.J.: Veterinary applied pharmacology and therapeutics. 5th Bailliere Tindall and Cassel, London p. 432. 1982.
- 6.- Castro, A.G., Carvalho, A.M., Carvalho, A.F.M. and Wolf, V.H.: Efficiency of bromhexine associated with antibiotic and/or chemotherapeutics in the treatment of respiratory diseases in broilers. Biologico, 54: 1-6, 13-15. (1988).
- 7.- Combs, G.F. and Mercurio, S.D.: Mechanism of protection of chicks from nitrofurantoin toxicity by low concentrations selenium in the diet. 44 (5): 1669. 1985
- 8.- Desmond, B.J. and Prescott, J.F.: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. Blackwell Scientific Publications. U.S.A. 1988
- 9.- Gómez, S.J., Mosqueda, T.A. y Dcampo, C.L.: Terapeutica Avícola. Primera edición. Mendoza e hijos, México. 1989
- 10.- González, A.G.: Las quinolonas: Estructura química, mecanismo de acción bactericida y perfil de farmacología clínica. Vet. Mex. XXIII: 57'66. 1992
- 11.- Griffin, J.P. and D Aray. A Manual of Adverse Drug interactions. Third Edition. Printed in Great Britain. 87-91. 1984
- 12.- Hamer et. al.: Pharmacokinetic studies. Arzneimittel-Forsch. 1978
- 13.- Hawking, J.F. and Schnitzer, R.J.: Experimental Chemotherapy. Academic Press, New York. Inc. Vol II, Part 1, 307-370. 1964
- 14.- Irvani, J., Melville, G.N. and Richter, H.G.: Mucus production influenced by drugs: An electron microscopic study. Pneumologie Suppl. 267-273. (1976).

- 15.- Jones, R.N., Barry, A.L., Gavan, T.L. and Washington II, J.A.: Método de susceptibilidad a quimioterapèuticos mediante macrodiluciones en caldo de acuerdo a Jones, et al. Susceptibility Tests: Microdilution and Macrodilution Broth Procedures. In: Manual of Clinical Microbiology. Eds Lennette, E.H., Balaus, A., Hausler, W.F. and Shadomy, H.I. 4th ed. (Chapter 101). Am. Soc. Microbiol. USA 1985
- 16.- Kapanci, Y. and Elemer, G.: Ambroxol and surfactant secretion. In: Pulmonary surfactant systems. Edited by: Cosmi E.U. and Scarpeili E.M. pp. 263-272. Elsevier, Holland, 1983.
- 17.- Kern, O.V. and Wilhem, F.: Influence of bromhexine on blood levels of antibiotics in pigs. In: Veterinary Pharmacology, Toxicology and Therapy in Food Producing Animals. pp. 57-62 9th Congress European Ass. Vet. Pharm. Tox. Budapes, Hungary. 1988
18. Martindale / The Extra Pharmacopeia. 29ava edición. The pharmaceutical press.
19. Manual Merk de Veterinaria. Merk & CO., INC* USA Centrum Tercera edición. Madrid, España, 1479-1480. 1988
- 20.- Meyer, J.L., Booth, H.N., and Mc. Donald, L.E: Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Fourth edition. Iowa State. University Press. 1977
- 21.- Michel, C., Suprin, L. and Dekinkelin, P.: A microdilution method for drug sensitivity testing of fish associated bacteria. 57 (1): 15-21. 1984
- 22.- Mosqueda, T.A. y Lucio, M.B.: Enfermedades Comunes de las Aves Domèsticas. F.M.V.Z. de la U.N.A.M.
- 23.- Paul, M.F., Paul, H.E., Bender, R.C., Kopko, F., Harrington, C.M., Ellis, V.R. and Buzard.: Studies on the distribution and excretion of certain nitrofurans. Antib. Chemother., 10:287-302 (1960).
- 24.- Pratt, M.D., and Fekety, M.D.: The antimicrobial drugs. Oxford Univerty Press. Printed in the United States o America. New York, Oxford. 266, 267 y 272. 1986
- 25.- Quintana, L.J.: Avitecnia: Manejo de las aves domèsticas más comunes. Editorial Trillas. 305 p. 1988
- 26.- Rossi, R.H.: Use of bromhexine in respiratory diseases of poultry. Rev. Vet. Argentina 21: 667-670 (1985).
- 27.- Sumano, H. y Ocampo, C.L.: Farmacología Veterinaria. Ed. Mc Graw Hill, México. 1988

ESTRUCTURA DE LA FURALTADONA

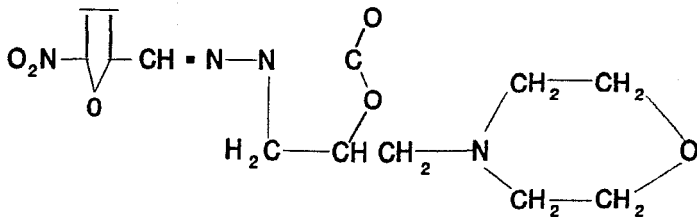


FIGURA 1.

HALOS DE INHIBICION DE E. COLI PARA AMBROXOL, BROMHEXINA Y FURALTADONA

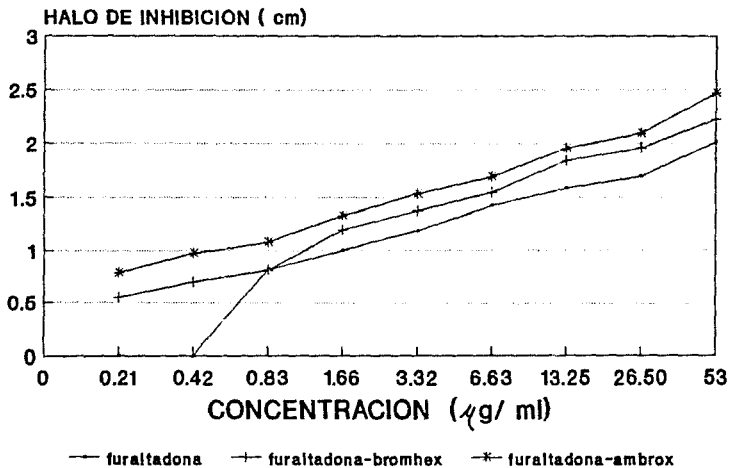


FIGURA 2.

EFFECTO COMPARATIVO AMBROXOL - BROMHEXINA

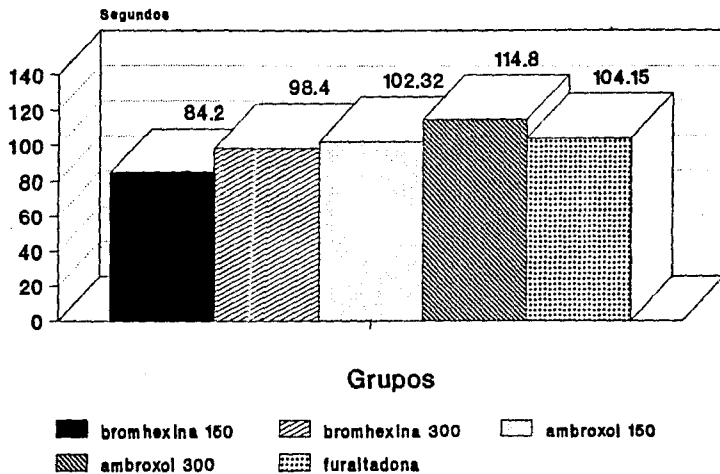


FIGURA 3.

EFFECTO COMPARATIVO AMBROXOL - BROMHEXINA

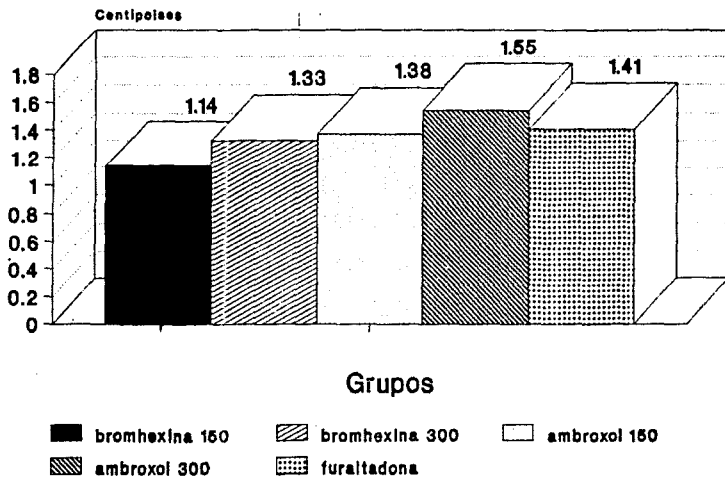


FIGURA 4.

CUADRO 1

Estado macroscópico del contenido traqueal de los cinco grupos de pollos evaluados con las diferentes concentraciones: bromhexina + furaltadona, ambroxol + furaltadona y furaltadona sola al momento del sacrificio.

No. de Pollo	Bromhexina+Furaltadona		Ambroxol+Furaltadona		Furaltadona
	BROMHEXINA		AMBROXOL		
	1.5 ppm (Gpo 1)	3 ppm (Gpo 2)	1.5 ppm (Gpo 3)	3 ppm (Gpo 4)	265ppm (Gpo 5)
1	MC	MS	MC	MMD	MS
2	MC	MC	MC	MS	MS
3	MC	MC	MC	MS	TM
4	MC	MC	MC	MMD	MS
5	MC	MC	MC	MMD	TM
6	MC	MC	MC	MS	MC
7	MC	MC	SM	MS	TM
8	MC	MC	MS	MS	TM
9	MC	MC	MS	MS	MC
10	MS	MC	MC	MMD	MC
11	MC	MC	MS	MS	MC
12	MC	MC	MS	MS	MC
13	MC	MC	MS	MS	MS
14	MC	MC	MMD	MMD	MS
15	MS	MC	MS	MS	MC
16	MC	MC	MMD	MMD	MS
17	MC	MC	MMD	MMD	TM
18	MC	MC	MMD	MS	MC
19	MC	MC	MS	MMD	MC
20	MS	MC	muerte	MMD	TM

- * TM = tapón de moco
- * MC = moco consistente
- * MS = moco suave
- * MMD = moco muy diluido (fluido)
- * SM = sin moco
- * M = muerte

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CUADRO 2

Determinación individual de la viscosidad del moco en centipoises (cp) mediante el uso del viscosímetro de Oswald y la desviación estándar obtenida por cada grupo de pollos utilizados con las diferentes combinaciones de bromhexina + furaltadona, ambroxol + furaltadona y furaltadona sola.

No. de Pollo	Bromhexina+Furaltadona				Ambroxol+Furaltadona					
	BROMHEXINA				AMBROXOL					FURALTADONA
	1.5 ppm		3 ppm		1.5 ppm		3 ppm		265ppm	
	(Gpo 1)		(Gpo 2)		(Gpo 3)		(Gpo 4)		(Gpo 5)	
	Segs	cp	Segs	cp	Segs	cp	Segs	cp	Segs	cp
1	86	1.16	118	1.59	145	1.96	114	1.54	81	1.09
2	118	1.59	82	1.11	92	1.24	176	2.38	104	1.41
3	115	1.55	80	1.08	140	1.89	89	1.20	201	2.72
4	41	0.55	91	1.23	74	1.00	119	1.61	94	1.27
5	85	1.15	108	1.46	94	1.27	108	1.46	82	1.11
6	80	1.08	90	1.22	78	1.05	89	1.20	106	1.43
7	81	1.09	88	1.19	97	1.31	85	1.15	88	1.19
8	80	1.08	91	1.23	169	2.28	206	2.78	92	1.24
9	85	1.15	84	1.14	82	1.11	117	1.58	91	1.23
10	72	0.97	94	1.27	94	1.27	100	1.35	106	1.43
11	81	1.09	84	1.14	99	1.34	111	1.50	91	1.23
12	82	1.11	104	1.41	78	1.05	79	1.07	95	1.28
13	78	1.05	88	1.19	82	1.11	123	1.66	85	1.15
14	111	1.50	217	2.93	71	0.96	92	1.24	113	1.53
15	42	0.57	86	1.16	185	2.50	89	1.20	96	1.30
16	74	1	81	1.09	72	0.97	258	3.49	104	1.41
17	74	1	98	1.32	104	1.41	83	1.12	132	1.78
18	120	1.62	85	1.15	88	1.19	87	1.18	96	1.30
19	90	1.22	120	1.62	100	1.35	89	1.20	136	1.84
20	89	1.20	79	1.07	muerte		82	1.11	90	1.22
Prom.	84.20	1.14	98.40	1.33	102.32	1.38	114.80	1.55	104.15	1.41
Desv st.		0.28		0.41		0.45		0.64		0.37

* lcp = 74 seg (viscosidad del agua)

CUADRO 3

Promedios obtenidos de la viscosidad del moco en centipoises (cp)§ en cada grupo de combinación bromhexina + furaltadona, ambroxol + furaltadona y furaltadona sola, utilizando un viscosímetro de Oswald.

GRUPO	QUIMIOITERAPEUTICO	VISCOSIDAD DEL MOCO
1	Bromhexina 1.5 ppm + Furaltadona 265 ppm	1.14 ± 0.28 cp
2	Bromhexina 3 ppm + Furaltadona 265 ppm	1.33 ± 0.41 cp
3	Ambroxol 1.5 ppm + Furaltadona 265 ppm	1.38 ± 0.45 cp
4	Ambroxol 3 ppm + Furaltadona 265 ppm	1.55 ± 0.64 cp
5	Furaltadona 265 ppm	1.41 ± 0.37 cp

§ 1cp = 74 seg (viscosidad del agua)