

62
Res.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**USO DEL AMBROXOL PARA FACILITAR EL PASO DE
NORFLOXACMANICOTINATO A MOCO
TRAQUEBRONQUIAL EN BECERROS**

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
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A
LUIS ALBERTO CHAVEZ PALMA

Asesores: M. V. Z., Ph. D. Héctor Sumano López
M. V. Z. Gabriela Mateos Trigos
M. V. Z. Graciela Tapia Pérez



MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN



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.

**USO DEL AMBROXOL PARA FACILITAR EL PASO DE
NORFLOXACINANICOTINATO A MOCO TRAQUEOBRONQUIAL
EN BECERROS**

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

Luis Alberto Chávez Palma

Asesores:

MVZ, Ph.D. Héctor Sumano López

MVZ. Gabriela Mateos Trigos

MVZ. Graciela Tapia Pérez

México, D.F. 1995.

DEDICATORIA

A Dios por darnos la oportunidad de emplear el conocimiento y descubrir las ciencias.

A mi Mamá Lupe a quién no solo yo debo mi formación, sino todos los que estamos al rededor de ella. Por su amor, dedicación, cuidados y sacrificio que hizo y seguir haciendo en bien de mi formación.

A mis Tía(os) por su confianza, apoyo y consejos.

A Cynthia y Luis por formar parte de mi vida y por ser mi apoyo constante.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincera gratitud a todas aquellas personas que colaboraron junto a mí, y que hicieron posible este estudio y sin las cuales no hubiese sido posible realizarlo.

MVZ. Ph. D. Luis Ocampo Camperos

MVZ. Adolfo Kunio Yabuta

Biol. Isabel Gracia

Ing. Luis Manuel Gutiérrez Torres

A todos les agradezco su colaboración y sus conocimientos.

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
HIPOTESIS	6
OBJETIVO	6
MATERIAL Y METODOS	7
RESULTADOS	13
DISCUSION	14
LITERATURA CITADA	16
CUADROS	19
FIGURAS	21

RESUMEN

CHAVEZ PALMA LUIS ALBERTO. USO DEL AMBROXOL PARA FACILITAR EL PASO DE NORFLOXACINA-NICOTINATO A MOCO TRAQUEOBRONQUIAL EN BECERROS.

(bajo la asesora de : MVZ, Ph. D. Héctor Sumano López, MVZ. Gabriela Mateos Trigos, MVZ Graciela Tapia Pérez).

Con objeto de determinar si el uso del ambroxol aumenta las concentraciones de norfloxacin-nicotinato en fluido traqueobronquial, se utilizaron 8 becerros Holsteín sanos, cuyo peso fluctuó entre 60-240 kg, alimentados a base de concentrado y ensilado, los cuales se agruparon aleatoriamente de acuerdo al tratamiento recibido: A. 4 becerros con norfloxacin-nicotinato a razón de 10 mg/kg/día. B. 4 becerros medicados además de norfloxacin-nicotinato, se administró ambroxol a razón de 15 mg/animal cada 8 horas por vía intramuscular. Ambos tratamientos se realizaron durante 3 días, 24 horas posteriores al último tratamiento se colectó moco traqueobronquial de los becerros de acuerdo a la técnica descrita por Peñuñuri (16) siendo exitosa la obtención del moco y enviado al laboratorio. Al analizar por el método de cromatografía líquida de alta resolución (H.P.L.C.) no se tuvieron resultados, sin embargo por el método de Bennet *et al* (9) se pudo conocer la concentración de las muestras en ambos grupos, siendo de 1.12 y 2.28 $\mu\text{g/ml}$ para el grupo A y B respectivamente, con diferencia estadísticamente significativa ($p=0.05$), determinando de esta forma, que el uso del ambroxol si aumenta las concentraciones de norfloxacin-nicotinato en fluido traqueobronquial lo cual nos sugiere su empleo, para que de esta forma se tenga mejores resultados en la terapéutica de enfermedades respiratorias sin aumentar la cantidad de producto.

USO DEL AMBROXOL PARA FACILITAR EL PASO DE NORFLOXACINA-NICOTINATO A MOCO TRAQUEOBRONQUIAL EN BECERROS.

INTRODUCCION.

Las enfermedades respiratorias representan unas de las patologías más comunes y que mas pérdidas causan a los bovinos en las etapas iniciales de su desarrollo (12, 13, 14, 15, 20, 21). Esta especie se considera particularmente susceptible a las enfermedades respiratorias dada la estructura anatómica de su árbol respiratorio y en función de su pobre relación entre el tejido respiratorio y masa corporal que los conduce rápidamente a insuficiencia respiratoria (12, 13, 14, 20, 21). Entre ellos se menciona la reducida superficie para intercambio gaseoso en comparación con sus necesidades de oxígeno, menor número de capilares por unidad de superficie alveolar, la extensa compartimentalización del pulmón, y la estrechez relativa de las vías respiratorias extratorácicas (21).

Los bovinos utilizan hasta sus límites su ventilación basal en condiciones fisiológicas, porque su superficie alveolar es poca en comparación al consumo total de oxígeno, por lo cual su reserva ventilatoria es reducida, lo que representa un problema mayor en condiciones patológicas y su velocidad de flujo de aire en las vías aéreas es proporcionalmente más elevada, lo que predispone a lesiones intraluminales, especialmente a nivel de ciertos estrechamientos.

La compartimentalización intensa del pulmón bovino presenta una ventaja relativamente menor pero con inconvenientes mayores (21).

En caso de las enfermedades respiratorias de origen bacteriano y aún en las infecciones virales que a menudo se asocian a infecciones bacterianas, se utilizan numerosos antibióticos y combinaciones de éstos (8, 11),

antiinflamatorios(5, 8), espectorantes (3, 17, 19) y productos tan diversos como vitaminas (12) y mucolíticos (1, 3, 17, 19).

De las etiologías más comunes destacan las neumonías bacterianas por lo que se han propuesto una enorme cantidad de alternativas antibacterianas tanto por su espectro como por su farmacocinética.

Entre los antibióticos que destacan en la vanguardia de las enfermedades respiratorias, se han utilizado la danofloxacin (fluoroquinolona de tercera generación), la filmicosina y la roxitromicina (derivados macrólidos de larga acción), el cefitiófur (cefalosporina de tercera generación) (4, 5, 7,8,11,12, 18) y recientemente se ha puesto a disposición del médico veterinario en México, un producto a base de norfloxacin sal nicotinato*.

De acuerdo con la información técnica de norfloxacin-nicotinato, esta fluoroquinolona de segunda generación adquiere características farmacocinéticas superiores a la base de norfloxacin, que evidentemente parecen mejorar su eficiencia terapéutica.

Los antibacterianos quinolónicos comúnmente contienen como estructura base el núcleo 3-carboxil-4 quinolona, teniendo su origen en el ácido nalidixico (18, 21).

Esta quinolona de primera generación fue sintetizada en la década de 1960 y tiene aplicación terapéutica contra una estrecha gama de bacterias gram negativas como *Echerichia coli*.

Posteriormente se realizaron síntesis adicionales manipulando la molécula base que se presta para añadir nuevos radicales para mejorar su actividad antibacteriana.

* Quinsel, Laboratorios Roussel de México.

En 1970 se produjeron compuestos como la flumequina, quinolona de segunda generación (9). La incorporación del átomo de flúor en la flumequina y la cadena piperacil del ácido pipemídico en la misma molécula produjo norfloxacin, siendo ésta su estructura química.

La norfloxacin actúa inhibiendo la subunidad alfa de la girasa del DNA, enzima esencial, que al no funcionar ocasiona un desequilibrio crítico en el metabolismo celular (6). Su espectro es amplio actuando contra gram positivas aerobias, como *A. pyogenes*, *Staphilococcus spp.*; gram negativas aerobias, como *A. pleuropneumoniae*, *B. bronchioseptica*, *Pasteurella spp.*, *H. somnus*; gram negativas anaerobias, como *Fusobacterium spp.*, *Bacteroides spp.* y *Mycoplasmas*.

Cabe mencionar que las fluoroquinolonas mantienen su actividad contra bacterias con resistencia a otros antibióticos, sin embargo tiene resistencia cruzada con otra quinolonas de segunda generación.

No obstante, quizá resulte de utilidad que algunos datos de la literatura señalan que la utilización del agente mucolítico ambroxol puede favorecer el ingreso de antimicrobianos a tejido respiratorio (3,17, 19).

Aunque los ensayos iniciales tanto con ambroxol como con bromhexina se han efectuado en aves (3,17,19) resulta congruente hacer una extrapolación de esta hipótesis a los bovinos en los que, el beneficio de aumentar las concentraciones de un antimicrobiano a tejido respiratorio es evidente.

El ambroxol es un metabolito de la bromhexina. Entre las propiedades de este fármaco destacan la producción de un surfactante. Tiene acción espectorante y mucolítica, además incrementa la frecuencia vibratoria del epitelio ciliar e induce el aumento de inmunoglobulinas en el epitelio respiratorio favoreciendo el incremento de la concentración de antibióticos en el tejido broncopulmonar (19).

En 1970 se produjeron compuestos como la flumequina, quinolona de segunda generación (9). La incorporación del átomo de flúor en la flumequina y la cadena piperacínil del ácido pipemídico en la misma molécula produjo norfloxacina, siendo ésta su estructura química.

La norfloxacina actúa inhibiendo la subunidad alfa de la girasa del DNA, enzima esencial, que al no funcionar ocasiona un desequilibrio crítico en el metabolismo celular (6). Su espectro es amplio actuando contra gram positivas aerobias, como *A. pyogenes*, *Staphilococcus spp.*; gram negativas aerobias, como *A. pleuropneumoniae*, *B. bronchioseptica*, *Pasteurella spp.*, *H. somnus*; gram negativas anaerobias, como *Fusobacterium spp.*, *Bacteroides spp.* y *Mycoplasmas*.

Cabe mencionar que las fluoroquinolonas mantienen su actividad contra bacterias con resistencia a otros antibióticos, sin embargo tiene resistencia cruzada con otra quinolonas de segunda generación.

No obstante, quizá resulte de utilidad que algunos datos de la literatura señalan que la utilización del agente mucolítico ambroxol puede favorecer el ingreso de antimicrobianos a tejido respiratorio (3,17, 19).

Aunque los ensayos iniciales tanto con ambroxol como con bromhexina se han efectuado en aves (3,17,19) resulta congruente hacer una extrapolación de esta hipótesis a los bovinos en los que, el beneficio de aumentar las concentraciones de un antimicrobiano a tejido respiratorio es evidente.

El ambroxol es un metabolito de la bromhexina. Entre las propiedades de este fármaco destacan la producción de un surfactante. Tiene acción espectorante y mucolítica, además incrementa la frecuencia vibratoria del epitelio ciliar e induce el aumento de inmunoglobulinas en el epitelio respiratorio favoreciendo el incremento de la concentración de antibióticos en el tejido broncopulmonar (19).

En particular la norfloxacina se puede ver beneficiada del posible efecto mencionado del ambroxol dado que para las fluoroquinolonas se ha observado que un pequeño aumento en su concentración representa un gran incremento en su eficacia antimicrobiana (3,19).

En virtud de la posible influencia del ambroxol sobre la distribución de antimicrobianos a vías respiratorias y con base en la potencia antibacteriana de la norfloxacina se ha considerado de utilidad llevar a cabo un ensayo destinado a evaluar las concentraciones que se logren de norfloxacina a tejido respiratorio de becerros sanos con o sin la medicación de ambroxol.

HIPOTESIS.

La medicación con ambroxol aumenta la concentración de norfloxacianicotinato en fluido traqueobronquial de becerros sanos.

OBJETIVO.

Determinar si el uso del ambroxol aumenta las concentraciones de norfloxacina-nicotinato en fluido traqueobronquial.

MATERIAL Y METODOS.

Se utilizaron 8 becerros raza Holstein, de ambos sexos, cuyo peso fluctuó entre los 60-240 kg, alimentados a base de concentrado y ensilado en las mismas cantidades, agua *ad libitum* y alojados en corraletas de engorda con 25% de sombra y 75% a la intemperie, sometidos a idénticas condiciones de manejo. Los cuales fueron proporcionados por la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes (C.E.P.I.E.R.).

Tres Médicos Veterinarios Zootecnistas evaluaron el estado físico de los animales, reportándolos en buen estado. Se improvisó una báscula para pesar a cada animal y se dividieron aleatoriamente en dos grupos para su estudio:

Grupo A: constituido por 4 animales a los cuales se les administró norfloxacin-nicotinato a razón de 10 mg /kg/día por vía intramuscular por 3 días. Aplicándose a las 6:00 horas y de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

Grupo B: formado por 4 animales tratados de la misma manera que el anterior pero administrando ambroxol por vía intramuscular cada 8 horas a razón de 15 mg dosis total en cada inyección. Aplicándose a las 6:00, 14:00 y 22:00 horas.

A las 72 horas posteriores a la primera administración se prosiguió a coleccionar fluidos traqueobronquiales mediante una variación de la técnica descrita por Peñuñuri (16), que a continuación se menciona: Para facilitar el manejo de los animales más pesados se tranquilizan con rompun* a dosis de 0.3 ml dosis total para los animales grandes y 0.15 ml para los chicos (la dosis se manejó de esta manera por sugerencia de los Médicos Veterinarios del C.E.P.I.E.R.)

* Rompun, Marca Reg. Laboratorios Bayer.

Se debe inmovilizar a los animales por medios de sujeción de manera tal que se pueda tener al animal con la cabeza hacia arriba y el cuello libre; se lava con detergentes un área aproximada de 15 cm², entre el tercio medio y la parte inferior del tercio superior del cuello. Se rasura la zona, acto seguido se infiltra 10 ml de anestesia local (lidocaína), entre tejido subcutáneo y la fascia peritraqueal. Se espera en promedio 15 min, para asegurarse de que el anestésico surta efecto, posteriormente se realiza una incisión vertical de aproximadamente 2 cm en la piel y tejido subcutáneo sobre la línea media de la tráquea, entre 2 anillos traqueales; lo cual facilita la inserción de una cánula (tiraleche modificada). Posteriormente se introduce en la tráquea el catéter de polietileno(+) a través de la cánula unos 90 cm aproximadamente (figura 1) hasta llegar a la bifurcación de la tráquea donde se aplican 40 ml; de solución salina estéril.

Posteriormente se aspira con la misma jeringa recolectando mas de 5 ml de líquido intratraqueal (véase figura 2), y se retira el catéter lentamente fuera de la tráquea (véase figura 3). Al retirar la cánula se utiliza sobre la herida un antiséptico (Topasone ++).

El líquido colectado se vierte en recipientes limpios; se identifican y se envían al laboratorio para su estudio.

Las características del moco recolectado se señalan en el cuadro 1. Con los fluidos traqueales obtenidos se llevo a cabo la determinación de norfloxacina por cromatografía líquida de alta resolución (H.P.L.C.), adoptando la técnica

+ Catéter de polietileno, Sonda Levin. Para alimentación de prematuros No.52 PR.

++ Topasone, Marca Reg. Laboratorios Norwich.

extractiva descrita por Boppana y Swanson (2), que a continuación se menciona: se homogeniza la muestra de moco en un agitador por 5 min, se toma 0.2 ml de la muestra y se le agrega 0.3 ml de acetonitrilo, de ésta mezcla se toman 0.15 ml y se le agrega 0.15 ml de agua bidestilada, de esto 25 μ l se inyecta al H.P.L.C.

Así mismo se determino mediante difusión en agar, modificada al método de Bennet *et al* (9) para lo cual se tuvo que estandarizar la norfloxacina a diferentes concentraciones.

1. Obtención de la cepa para la prueba :

Para estandarizar la prueba se utilizó la cepa ATCCC 25922 *Echerichia coli* susceptible al quimioterapéutico la cual estuvo mantenida en leche descremada estéril a - 20°C en el laboratorio de Microbiología de la Universidad de Texas A & M. Con un hisopo estéril se tomó una muestra y se sembró en una caja de Petri con medio selectivo y diferencial agar verde brillante (V. B.) mediante la técnica de aislamiento en cultivo puro e incubandose 24 horas a 37°C , el cultivo obtenido se resembró con la técnica de estría continua en una caja de Petri con agar V.B. durante el mismo tiempo y a la misma temperatura.

Así se utilizaron cultivos jóvenes de 24 horas de *Echerichi coli* para toda la prueba.

2. Preparación del material.

Se utilizaron cajas refractarias tipo Pyrex de 22 cm por 22 cm y 5 cm de altura cuyo borde superior es esmerilado sometido a un lavado con agua y jabón, una vez secos con alcohol al 70%. Posteriormente se sellan con dos bolsas de plástico de silicón (agapack) y se envuelven en papel periódico para su esterilización en autoclave a una temperatura de 121°C y una presión de 15 libras durante 15 minutos.

Los medios utilizados fueron agar Muller-Hilton (M-H) a un pH de 6.0 y caldo infusión cerebro corazón (CICC) preparados según especificaciones del producto y esterilizados en autoclaves (121°C/15 lbs/15min).

3. Estandarización de la prueba:

Esta se llevó a cabo para determinar la concentración de bacterias, la concentración de fármaco y el volumen de agar a utilizar a lo largo de toda la investigación y poder así cotejar los resultados a obtener a partir de las muestras.

Para la concentración de bacterias se utiliza un inóculo obtenido del cultivo joven de *E. coli* en agar V.B. que se resiembró en un tubo con 4 ml de CICC, se homogeneiza y se estandariza en el espectrofotómetro de Bausch y Lomb hasta alcanzar una lectura de 0.45 de absorbancia al utilizar un filtro para medir una longitud de onda con luz visible de 530 nm lo cual corresponde a 112.5×10 Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/ml. De aquí se toman 1.6 ml de inóculo estándar y se agregan a 200 ml de agar M-H estéril, cuando este se encuentra tibio, lo que determinó una concentración final bacteriana de 1.41×10 UFC/ml.

En cuanto a la concentración del quimioterapéutico el fármaco utilizado fue quinsel de laboratorios Roussel que viene en una presentación de norfloxacina-nicotinato al 5%.

En un tubo con 8 ml de agua bidestilada estéril se agregan 10 μ l de quinsel obteniendo una concentración inicial de 31.25 μ l/ml. a partir de esta concentración estéril se realizan 8 diluciones dobles seriadas obteniéndose una concentración final de 0.12 μ l/ml. Las diluciones se hicieron con una micropipeta de 100 μ l con puntillas estériles (tips) pipeteando 7 veces en cada dilución.

4) Preparación de las placas de agar:

Una vez esterilizados los refractarios se les quita el papel y se colocan junto a 2 mecheros de Bunsen lo más cercano posible con el cuarto cerrado sin corrientes de aire. Se destapan y se vacían en el agar M-H (220 ml/refractario) inmediatamente después de habersele agregado el inóculo estándar y homogenizado. En este momento con un mechero se quitan las posibles burbujas de aire que queden y se tapa herméticamente con el plástico. Se deja solidificar en una superficie plana durante una hora aproximadamente. Una vez solidificado se realizan 30 perforaciones equidistantes una de otra a 3 cm en el agar con un sacabocados de 0.5 cm de diámetro para lo cual se utilizó un diagrama con las posiciones de las perforaciones debajo del refractario.

Una vez realizado esto, con la micropipeta se toman 100 μ l de cada una de las diluciones y se colocan en los pozos, utilizando una puntilla diferente en cada ocasión. Se identifican los pozos en el refractario y se incuban a 37°C durante 24 horas.

5) Lectura de los halos de inhibición:

A las 24 horas se miden los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano con vernier, se repite todo el procedimiento desde el principio 5 veces y con el promedio de los resultados obtenidos en las mediciones se realiza una gráfica en papel semilogarítmico concentración quimioterapéutica contra halo de inhibición, obteniéndose así una línea estándar para ser utilizada en el análisis de muestras.

6) Análisis de las muestras :

Para el análisis de las muestras se realizan los mismos pasos que para la estandarización de la prueba anteriormente descrita, con la diferencia de que en lugar de utilizar diluciones del fármaco se aplicaron directamente 100 μ g de los fluidos obtenidos de las muestras. Los resultados (halos de inhibición) se

cotejan contra la línea estándar para determinar la concentración en el fluido del fármaco en cada muestra.

Se obtuvieron intervalos de confianza para muestras pequeñas, para el promedio de metabolitos de norfloxacin-nicotinato encontrados en cada uno de los tratamientos (véase cuadro 2).

Para comparar los tratamientos se obtuvo un intervalo de confianza para diferencias entre medias (véase cuadro 3).

La prueba de Fisher se realizó con objeto de comparar ambos tratamientos en cuanto a las características del moco.

RESULTADOS

Con el H.P.L.C. no se obtuvieron resultados por diversos problemas.

Las concentraciones de norfloxacin en moco se determino mediante el análisis de Bennet *et al* (9) que es un método microbiológico de alta sensibilidad para fluoroquinolonas (9) y que se basan en la difusión en agar del agente en un medio conteniendo una cantidad estándar de bacterias (*E. coli*) particularmente sensibles a la norfloxacin.

Se determinaron por triplicado los valores en medio Muller-Hilton a un pH de 6.0 y con la cepa ATCC 25922 de *E. coli* obtenida del Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Texas A & M. Los límites de detección para la prueba se establecieron en 0.01 $\mu\text{g/ml}$ en la escala baja y 10 $\mu\text{g/ml}$ en la escala alta. Mas allá de esta concentración se obtuvo una respuesta confiable diluyendo la muestra.

Para aplicar la muestra se utilizaron discos de papel filtro Wattman (0.001 μm) y pozos logrados con un sacabocados de tamaño estándar y un volumen de 0.1 ml. Las placa se incubaron a 37°C por 24 horas. Se obtuvo una curva estándar. Las muestras problema se compararon contra dicha curva para obtener las concentraciones de norfloxacin y metabolitos activos. En el cuadro 2 se presentan los valores promedio obtenidos para las 8 muestras de moco.

El cuadro 2 muestra los límites de confianza obtenidos para cada uno de los tratamientos.

El cuadro 3 muestra los resultados de la diferencia entre medias obtenido para comparar los tratamientos, dado que éste no contiene el cero, las diferencias entre tratamientos son estadísticamente significativas.

El cuadro 4 muestra los resultados obtenidos con la prueba de Fisher para las características del moco.

DISCUSION.

Bajo el procedimiento descrito por Peñuñuri (16) se pudo obtener de todos los becerros una muestra de moco traqueobronquial producto del lavado con 40 ml. Como era de esperarse las características mucocinéticas variaron notablemente ya que en unos casos se obtuvo moco líquido, en otros moco con sangre, en otros moco con tejido y en algunos con material extraño que no se pudo identificar. Todas las muestras fueron homogeneizadas en un agitador para evitar que se evaluaran solamente algunas de las fases (mucosa o acuosa). Ninguno de los becerros sufrió alteraciones respiratorias o de algún otra índole posteriores al procedimiento. En éste ensayo se modificó la forma de sujeción, pues se realizó empleando una manga de manejo en lugar de utilizar personal y provocar así mayores problemas y en los animales pequeños se disminuyó el estrés al sujetarlo una sola persona.

En cuanto a la técnica analítica utilizada se observó lo siguiente: con la técnica de H.P.L.C se obtuvieron resultados poco uniformes con variaciones que denotaban un error metodológico. Por lo que se desechó.

Dado que esta técnica no brindó los resultados esperados se recurrió a la técnica de Bennet *et al* ya descrita en material y métodos (9) con la cual se obtuvieron resultados más congruentes; y sobre todo homogéneos. Para resolver los problemas inherentes a la capacidad de difusión del moco en la placa de gel se homogeneizó la muestra para estandarizarla.

Recientemente Küng *et al* (10) encontraron que para fluoroquinolonas el método con H.P.L.C. es tan confiable como el método bacteriológico. En este, el método bacteriológico fué evidentemente más confiable y las variaciones obtenidas dentro de cada grupo pueden reflejar tanto las variaciones farmacocinéticas individuales como las diferencias en la fluidez de las muestras traqueobronquiales.

Los resultados sugieren, una vez hecho el análisis de intervalo de confianza con $p = 0.05$, que existe una diferencia significativa a nivel estadístico entre las concentraciones logradas de norfloxacina con y sin mucolítico. Esto sugiere que la utilización del ambroxol a dosis empírica utilizada de 15 mg por becerro, es útil para favorecer el ingreso de norfloxacina a vías respiratorias y por lo tanto pudiera pensarse que dicho aumento de la concentración puede ser útil para el tratamiento de infecciones bacterianas.

En particular, se puede considerar que un aumento ligero de la concentración de norfloxacina es de gran utilidad dado que se sabe que las fluoroquinolonas tienen un efecto bactericida en su concentración mínima inhibitoria (18). En este ensayo se lograron concentraciones arriba de las mínimas inhibitorias y por lo tanto óptimas bactericidas para muchos microorganismos.

En particular la norfloxacina no tiende a difundir especialmente a vías respiratorias, como se ha demostrado en otras especies (18). Con esta combinación es factible pensar que se puede tener un fármaco de mayor eficacia sin aumentar la dosis, modificando la farmacocinética al promover su paso a vías respiratorias.

No hay muchos ensayos que describan la importancia de los productos mucocinéticos en becerros y en este sentido los resultados presentados son originales. Sería de utilidad evaluar la eficacia de otros mucolíticos, así como de una gran variedad de medicamentos que pueden modificar la farmacocinética de éste y otros antimicrobianos, tal es el caso de los antiinflamatorios no esteroideos y los espectorantes.

LITERATURA CITADA.

1. Bertoli, L. : Action of ambroxol on mucociliary clearance In: Pulmonary surfactant systems. *Elsevier, North-Holland*, (1983)
2. Boppana, V.K. and Swanson, B.N.: *Antimicrob. Agents Chemother.*, 21:808-810. (1982)
3. Castro, A.G., Carvalho, A.M. and Worf, V.H.: Efficiency of bromhexine associated with antibiotics and/or chemotherapeutics in treatment of respiratory diseases in broilers. *Biol.*, 54: 1-6, 13-15 (1988)
4. Chin, N.X. and Neu, H.C.: In vitro activity of enoxacinin a quinolone carboxylic acid, compared with those of norflaxin, new β lactams, aminoglycosides, and trimethoprim. *Antimicrob. Agent Chemother.*, 24:754-763 (1983)
5. Christie, B.H., Pierson, R.E., Braddy, P.M., Slack, D.E., Horton, D.P., Jense, R., Lee, E.A., Remmenga, E.E., and Rutt, K.G.: Efficacy of corticosteroids assupportive Therapy for bronchral pneumonia in yearling feedlot cattle. *Bovine Prac.*, 12:115-117 (1977)
6. Crumplin, G.C., Kenwright, Pand Hirst, T.: Investigaçion in to the mechanism of action of the antibacterial agent nortloxacion. *J. Antimicrob. Chemother.*, 8 : 251-261 (1984)
7. Gorham, P.E., Carroll, L.V., and Merrol, J.W., Watkins, L.E., Osc, E.E., Tonkinson, L.V., and Morrel, J.R.: Tilmicosin as asingle injection treatment for respiratory disease of feedlot cattle. *Can. Vet. J.*, 31: 826-829 (1990).
8. Goubin, F., Schelcher, F., and Tourtain, P.L.: Antibiotherapie pulmonaire chez les bouins: bases pharmacologique. *L. point Vet.*, 23: 801-809 (1991)

9. Ivison, V.: Farmacocinética básica de la danofloxacin en perros adultos. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1994.*
10. Kung, J., Riond, L., Wolfram, S. and Wanner, M.: Comparison of an HPLC and bioassay method to determine antimicrobial concentrations after intravenous and oral administration of enrofloxacin in four dogs. *Res. in Vet. Sci., 54: 247-248 (1983).*
11. Laven, R. and Andrews, A.H.: Long-acting antibiotic formulations in the treatment of calf pneumonia: a comparative study of tilmicosin and oxytetracycline. *Vet. Rec., 129: 109-111 (1991)*
12. Lekeux, P.: Perspectives thérapeutiques en pathologies respiratoires aiguës de bovins. *L. Point Vet., 23: 811-815 (1991)*
13. Lekeux, P.: Particularités physiologiques de la fonction pulmonaire des bovins. *L. Point Vet., 23: 793-799 (1991)*
14. Lekeux, P., Hajer, R. and Breukink, H.J.: Pulmonary function testing in calves: technical data. *Am. J. Vet. Res., 45: 342-345 (1984)*
15. Lekeux, P., Hajer, R. and Breukink, H.J.: Effect of somatic growth on pulmonary function values in healthy Friesian cattle. *Am. J. Vet. Res., 45: 2003-2007 (1984)*
16. Peñuñuri, L.E.: Técnica de lavado intratraqueal en bovinos y sus posibles complicaciones. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1984.*
17. Rossi, R.H.: Use of bromhexine in respiratory diseases of poultry. *Vet. Arg., 2: 667-670 (1985)*
18. Sumano, H.: Quinolonas y fluoroquinolonas en medicina veterinaria. *Vet. Mex., 24: 83-92 (1993)*

19. Sumano, H., Capistran, A., Gracia, I., Meade, G., Rivero, A. and Ruiz-Ramirez, L.: Use of ambroxol and bromhexin as mucolytics and as enhancer of pasage of furaltadone to tracheobronchial secretions in broilers. *Br. Poultry Sci.* (en prensa) 1993
20. Veit, H.P. and Farrell, R.: The anatomy and physiology of the bovine respiratory sistem relating to pulmonary disease. *Cornell Vet.*, 68: 555-581 (1978)
21. Zanabria, K.: Evaluación clínica comparativa entre la eficacia de la roxitromicina y la danofloxacina en el tratamiento del síndrome neumónico agudo de etiología no determinada en becerras. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1994.

CUADRO 1. Características del moco traqueobronquial recolectada

BECCERRO No.	FLUIDEZ	CANTIDAD	ADHESIVIDAD	ASPECTO
1	+	+	+++	TURBIO
2	+	+	+++	TURBIO
3	+	+	+++	TURBIO
4	+	+	+++	TURBIO
5	+++	+++	+	CRISTALINO
6	+++	+++	+	CRISTALINO
7	+	+	+++	TURBIO
8	+++	+++	+	CRISTALINO

CLAVE:

+ Leve - moderada
+++ Considerable - abundante

CUADRO 2. Valores de norfloxacina y metabolito(s) activo(s) ($\mu\text{g/ml}$) en moco traqueobronquial de becerros dosificados por tres días con los tratamientos A y B.

TRATAMIENTO	X	DE	LIMITE DE CONFIANZA 95%	
			MINIMO	MAXIMO
A	1.93	0.15	1.65	2.21
A	0.90	0.26	0.41	1.37
A	0.70	0.17	0.38	1.02
A	0.96	0.23	0.50	1.42
B	2.63	0.49	1.72	3.54
B	2.30	0.31	1.74	2.86
B	2.23	0.47	1.36	3.10
B	1.96	0.21	1.58	2.34

CLAVE:

A: Norfloxacina-nicotinato 10 mg/kg/día.
B: Norfloxacina-nicotinato más ambroxol 15 mg/kg/animal cada 8 horas.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CUADRO 3. Diferencia entre las medias de los valores de norfloxacina y metabolito(s) activo(s) ($\mu\text{g/ml}$) de los tratamientos A y B.

	$\mu\text{A} - \mu\text{B}$
MÍNIMO	0.36
MÁXIMO	1.96

CUADRO 4. Prueba exacta de Fisher para evaluar las características del moco (fluidez, cantidad, adhesividad y aspecto).

	LEVE-MODERADA	CONSIDERABLE-ABUNDANTE
TRATAMIENTO B	A=1	B=3
TRATAMIENTO A	C=4	D=0

$p=0.05$

**Figura 1. Introducción del catéter de polietileno en la tráquea ,
a través de la cánula en becerros**



Figura 2. Recolección de moco traqueobronquial de becerros.



figura 3. Deslizamiento del catéter hacia fuera de la tráquea del becerro.

