

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

**EVALUACION IN VITRO DE LA RESISTENCIA A DROGAS ANTIMICRO-
BIANAS DE CEPAS DE *Haemophilus paragallinarum* AISLADAS EN EL
LABORATORIO DE
PATOLOGIA AVIAR**

Presentada a la Junta Directiva de la Facultad de
Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad
de San Carlos de Guatemala

por

JOSE MARIANO CARRERA FUENTES

Al conferirsele el Título Académico de

MEDICO VETERINARIO

GUATEMALA, AGOSTO DE 1,996

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

10
T(682)
C.A

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

DECANO:	Dr. José Perezcanto
SECRETARIO:	Dr. Humberto Maldonado
VOCAL PRIMERO:	Lic. Rómulo Gramajo
VOCAL SEGUNDO:	Dr. Otto Lima
VOCAL TERCERO:	Dr. Mario Motta
VOCAL CUARTO:	Br. Hania Ruiz
VOCAL QUINTO:	Br. Luis Sandoval

ASESORES DE TESIS

**Dra. Elizabeth Padilla de Motta
Dra. Lucero Serrano Arriaza
Dr. Jaime Méndez**

**HONORABLE TRIBUNAL
EXAMINADOR**

**De conformidad con lo que establecen los estatutos de la Universidad
de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración
el Trabajo de Tesis:**

**"EVALUACION IN VITRO DE LA RESISTENCIA A
DROGAS ANTIMICROBIANAS DE CEPAS DE
Haemophilus paragallinarum
AISLADAS EN EL LABORATORIO DE PATOLOGIA AVIAR"**

**Que me fuera aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de
Medicina Veterinaria y Zootecnia, previo a optar al Título de:**

MEDICO VETERINARIO

DEDICATORIA

A LA SAGRADA FAMILIA:

Jesús, San José y la Virgen María, a quienes encomendé mi carrera desde sus inicios

A MIS SEÑORES PADRES:

Mariano y Eluvia, como una pequeña forma de agradecerles, porque por sus esfuerzos y apoyo hemos podido realizar nuestros estudios

A MIS HERMANOS:

Guadalupe, Romelia y Benjamín, con el deseo que también pronto finalicen sus estudios universitarios

A ROSALVA MENDOZA:

Con quien compartimos sueños y proyectos

A VETERINARIOS SIN FRONTERAS:

Porque es una institución que se dedica al desarrollo de nuestra Patria, aún con mayor esfuerzo e interés que la mayoría de instituciones y ciudadanos guatemaltecos

AGRADECIMIENTOS

En este espacio queremos darle las gracias a todas las personas e instituciones que colaboraron con nosotros para elaborar el presente trabajo de tesis:

**Dras. Elizabeth Padilla, Lucero Serrano y Dr. Jaime Méndez:
Por su trabajo como asesores.**

**Dra. Griselda Arizandieta, Lic. Inf. Marco De la Rosa y Srita. Mayra Motta:
Por su ayuda en el laboratorio y con el suministro de materiales y equipo.**

**Rosalva Mendoza:
Por su apoyo en todo momento, y además por su colaboración en la redacción y transcripción final del documento.**

**Patricia Glick:
Por el suministro de gran parte del material bibliográfico en que se apoya la investigación.**

**Veterinarios sin Fronteras:
Por su apoyo con equipo de oficina durante buena parte del tiempo que duró la realización del trabajo.**

**Laboratorio BIOVET:
Por su ayuda para obtener parte del material biológico utilizado.**

CONTENIDO

	Pag. No.
I. INTRODUCCION	1
II. HIPOTESIS	2
III. OBJETIVOS	3
IV. REVISION DE LITERATURA	4
Coriza infecciosa (CI)	4
1. Definición	4
2. Antecedentes históricos	4
3.1. Clasificación	4
3.2. Morfología y tinción	6
3.3. Resistencia a agentes físicos y químicos	6
4. Epidemiología	6
4.1. Distribución	6
4.2. Especies afectadas	6
4.3. Formas de transmisión	7
4.4. Morbilidad y mortalidad	7
5. Curso de la enfermedad y sintomatología	7
6. Mecanismo de patogenicidad	8
7. Lesiones macroscópicas e histopatología	8
8. Diagnóstico	9
9. Tratamiento	9
9.1. Oxitetraciclina	10
9.2. Eritromicina	10
9.3. Estreptomina	11
9.4. Enrofloxacina	11
9.5. Sulfas	12
10. Resistencia a drogas antimicrobianas	12
10.1. Aplicación clínica de mediciones in vitro	12
10.2. Mecanismos de resistencia	13
10.3. Estudios de susceptibilidad	14
V. MATERIALES Y METODOS	15
1. Materiales	15
1.1. Recursos Humanos	15

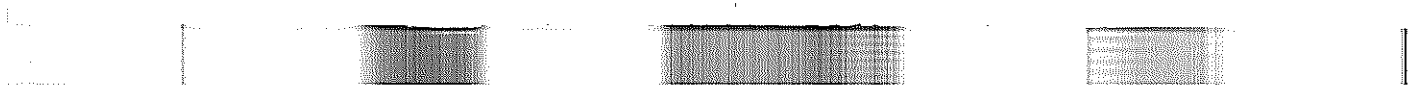
1.2. Materiales de laboratorio	15
1.3. Material biológico	15
1.4. Centros de referencia	16
2. Métodos	16
2.1. Diseño experimental	16
2.2. Procedimiento	16
VII. RESULTADOS Y DISCUSION	20
VIII. CONCLUSIONES	22
IX. RECOMENDACIONES	23
X. RESUMEN	24
XI. ANEXOS	25
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	36

INDICE DE CUADROS

	No. de pag.
1. Diferenciación de las especies de Haemophilus de las aves mediante pruebas bioquímicas	26
2. Criterios de interpretación para determinar susceptibilidad o resistencia tomando como base la concentración inhibitoria mínima	27
3. Resultados de los antibiogramas Medidas de los halos de inhibición	28
4. Calificación cualitativa de los resultados de antibiogramas	29
5. Promedios de los halos de inhibición	30

INDICE DE GRAFICAS

1. Halos de inhibición para Tetraciclina	31
2. Halos de inhibición para Enrofloxacina	32
3. Halos de inhibición para Eritromicina	33
4. Halos de inhibición para Estreptomina	34
5. Halos de inhibición para Sulfacloropirazina+Trimethoprim	35



I. INTRODUCCIÓN

La bacteria *Haemophilus paragallinarum* es el agente etiológico de la coriza infecciosa. Esta enfermedad afecta ponedoras en el peak de su producción, y con menos frecuencia pollos de engorde y pollas de reposición mayores de 4 semanas. Si bien la enfermedad no provoca mortalidad por sí misma, es causa de cuantiosas pérdidas económicas a la avicultura de nuestro país en virtud del marcado descenso de la postura y gastos en tratamientos que ocasiona.

La avicultura genera más del 50% del total de ingresos en concepto de actividades pecuarias del país y además es la explotación pecuaria que está más al alcance de la gran mayoría de la población nacional. Estas son razones suficientes para que a cualquier entidad que menoscabe su bienestar se le preste la debida atención de parte de los Médicos Veterinarios. Y siendo la coriza infecciosa una entidad de interés tanto en las pequeñas como grandes explotaciones, se comprenderá el daño que ocasiona tanto a las economías domésticas como a la avicultura organizada.

Al presentarse la enfermedad en una granja, es necesario aplicar terapia a base de drogas antimicrobianas. En muchos casos la enfermedad cede fácilmente, pero puede suceder que no responda al tratamiento. De esta forma el problema se complica, sobre todo porque hay más pérdidas por baja de la producción y por aumento del costo de tratamiento. La explicación del problema es más fácil que su resolución: *Haemophilus paragallinarum* es una bacteria capaz de desarrollar resistencia a las drogas antimicrobianas, y más aún si existen condiciones que le sean favorables. Entre ellas subdosificación de productos, uso prolongado de un solo fármaco, etc.

Nuestra investigación contribuye con algunos datos sobre la resistencia o sensibilidad de las cepas de *Haemophilus paragallinarum* que se aíslan en el Laboratorio de Patología Aviar. Dichos datos pueden resultar útiles para orientar a quien tenga que enfrentarse a un brote de coriza infecciosa, aparte que constituyen el primer esfuerzo de estudiar el fenómeno en nuestro medio.

II. HIPOTESIS

Las cepas de *Haemophilus paragallinarum* aisladas en el Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia durante el período de Agosto '93 a junio '95 son resistentes a los siguientes quimioterapéuticos antimicrobianos: oxitetraciclina, eritromicina, enrofloxacin, estreptomycin y sulfaclopirazina sódica+trimetoprim.

III. OBJETIVOS

1. Establecer si existe resistencia de *Haemophilus paragallinarum* a oxitetraciclina, eritromicina, enrofloxacin, sulfacloropirazina sódica + trimethoprim y estreptomina.
2. Determinar cuales drogas antimicrobianas son efectivas para el tratamiento de coriza infecciosa, tomando como base su efectividad in vitro.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

CORIZA INFECCIOSA (CI)

1. Definición.

La CI es una enfermedad aguda de las vías respiratorias altas producida por la bacteria *Haemophilus paragallinarum*. Si bien las más frecuentemente afectadas son las ponedoras que se encuentran en su período de máxima productividad, también pueden contraer la enfermedad aves de reposición y pollos de engorde que hayan sobrepasado las cuatro semanas de edad. El cuadro clínico que presenta la CI se resume en edema facial, descarga nasal, lagrimeo y baja de la producción. (9,30,57)

2. Antecedentes Históricos:

Hacia 1920 fue Beach el primero en considerar a la CI como una entidad clínica distinta, pero el aislamiento del agente etiológico no fue posible durante años. Esto se debía a que la enfermedad aparecía enmascarada por infecciones mixtas y a las dificultades que implica en sí el cultivo y aislamiento de *Haemophilus sp.* Sin embargo en el año 1931, De Blicke logró aislar el agente causal, una bacteria a la que llamó *Bacillus haemoglobinophilus coryzae gallinarum*. Y luego en 1933, Delaplane y Stuart juntos, y Hoffman solo, lo aislaron en los Estados Unidos. (2,7,8,18,24,)

3. Características Microbiológicas.

3.1. Clasificación:

Después de 60 años del primer aislamiento del *Haemophilus paragallinarum* (*H. paragallinarum*), su clasificación, identificación y patogenicidad han sido un mar de misterio y confusión. Inicialmente se clasificó al agente etiológico de CI como *Haemophilus gallinarum*, por ser dependiente de los factores X (hemina) y V (NAD). Pero en 1962 Page descubrió que no necesitaba del factor X, sino solo del factor V. Este fue el primer paso para que posteriormente se aceptara la existencia de una nueva especie, *H. paragallinarum*. Hoy se sabe que ni siquiera las especies de *Haemophilus avium* son dependientes del factor X, porque ambas especies son capaces de sintetizar porfirina a partir de ácido delta-amino-levulénico. (6,9,11,13)

H. paragallinarum es una especie dentro de la cual se encuentra gran variedad. Es decir que existen muchas cepas, las cuales a través de la historia del microorganismo se han tratado de clasificar de distintas maneras. Por ejemplo, Page en 1962 utilizó un test de aglutinación en placa y definió 3 serovares que llamó A, B y C. En estudios independientes, Kato y Tsubahara describen también 3 serovares a los que llamaron I, II, III; mientras tanto, Sawata et al reconocieron solamente los serovares 1 y 2. Todos estos estudios se basaron en pruebas de aglutinación. (6,9,11,44)

Hubo además otros esquemas de serotipificación, como el de Hinz, en el cual se detectaron antígenos termoestables en un test de difusión gel. El investigador llegó a descubrir tres serovares, pero existía la limitante de que los serovares no correspondían con la inmunidad específica de cada tipo; debido a este inconveniente el esquema no se llegó a utilizar. (6)

Kume et al propusieron un esquema de serotipificación basado en la detección de hemaglutininas en células de *H. paragallinarum*. El antígeno detectado en la prueba es termolábil, sensible a la tripsina, hialuronidasa resistente y se le ha llamado HA-L. Por medio de este sistema se han reconocido 3 serogrupos, dentro de los cuales se detectan pequeñas diferencias por medio de absorción de antiseros, determinándose así además de los 3 serogrupos, 7 serovares. (6,9,68,69)

La clasificación de *H. paragallinarum* no interesa solamente a nivel de Laboratorio. Es necesaria para llevar a cabo estudios epidemiológicos de CI. Por ejemplo, la septicemia se asocia al biovar I de Kilian, mientras que la bronquitis crónica y la sinusitis a los biovars II y III del mismo autor. Se considera incluso que aún el sistema de clasificación de Kume es limitado para explicar satisfactoriamente el comportamiento epidemiológico de *H. paragallinarum*. Así que más recientemente se ha propuesto un esquema de clasificación que involucra el sistema de Kume y además patrones de fermentación de carbohidratos y patrones de resistencia a drogas antimicrobianas. (6,60)

El problema taxonómico se extiende además a otras especies del género *Haemophilus*, e incluso al género en sí mismo. Según la definición que Mannheim et al proponen de las características de las bacterias del género *Haemophilus*, *H. paragallinarum* quedaría excluido y encajaría más bien dentro del género *Actinobacillus*. (30,39,47,48)

Lo mismo ocurre en el caso de los microorganismos denominados *Haemophilus avium*, los cuales se distinguen por ser saprófitos oportunistas. Recientemente se ha determinado su mayor relación con el género *Pasteurella* que con *Haemophilus*. En consecuencia se ha propuesto cambiar la nomenclatura actual de *Haemophilus avium* a *Pasteurella avium* comb. nov., *Pasteurella volantium* sp. nov. y *Pasteurella species A*, según ciertas diferencias que existen entre las tres variedades. Sin embargo, Blackall en un estudio posterior sólo logró clasificar dentro de los sustitutos propuestos

el 64% de 39 cepas que trabajó. El resto no encajaría ni siquiera dentro de los 3 nombres nuevos mencionados. No obstante, el investigador reconoce que se ha progresado en la clasificación de dicha especie. (8,9,12,39,44,47,48,52)

3.2. Morfología y Tinción:

H. paragallinarum es una bacteria Gram negativa, no móvil, que en cultivos de 24 horas se observa como bacilos cortos o cocobacilos de 1-3 micras de largo por 0.4-0.8 micras de ancho. Existen cepas capsuladas, lo cual determina su virulencia. Cuando el aislamiento es a partir de senos nasales pueden haber características de tinción bipolar. (20,46,57,69)

Las colonias son pequeñas, y se ven como diminutas gotas de rocío de hasta 0.3 mm de diámetro. Bajo luz oblicua se distinguen tanto formas iridiscentes como no iridiscentes y además formas intermedias. (20,30,68,69)

3.3. Resistencia a agentes físicos y químicos:

H. paragallinarum es un microorganismo sumamente susceptible al efecto del medio ambiente. Se inactiva con rapidez fuera del huésped. El exudado infeccioso suspendido en el agua del grifo se inactiva en 4 horas a temperatura ambiente; éste mismo exudado continúa infeccioso por 24 horas a 22°C y en solución salina. A 45-55°C los cultivos mueren en 2-10 minutos. (30,68)

4. Epidemiología de la enfermedad.

4.1. Distribución:

La CI es una enfermedad de distribución mundial, pero las mayores pérdidas económicas se producen en Centro y Sudamérica, Japón, Alemania y Estados Unidos. En Guatemala la incidencia es mayor en el área de Amatitlán, Villa Nueva y Chimaltenango. (20,40,42,43,56)

4.2. Especies afectadas:

Las gallinas son los hospederos naturales de la enfermedad, así como los pollos mayores de 4 semanas. Según estudios de Beach y Schalm existen variaciones

individuales en la susceptibilidad. Conforme la edad de las aves aumenta, el período de incubación tiende a acortarse y el curso de la enfermedad tiende a alargarse. (7,8,20,68)

Pocas veces se ha conseguido diagnosticar la afección en faisanes, pero ha sido posible; también se ha observado en gallinas de guinea. Las siguientes especies se consideran refractarias a la infección experimental: pavo, pato, paloma, gorrión y cuervo. Es raro encontrar *H. paragallinarum* fuera de pollos y gallinas. (21,29,56)

4.3. Formas de transmisión.

Básicamente la transmisión se lleva a cabo a partir de aves que padecen la enfermedad en forma crónica, o bien aves portadoras sanas. La presentación de nuevos brotes coincide con el ingreso de nuevos lotes de aves susceptibles. Esta es una forma de transmisión importante en las granjas en que existen aves de edades múltiples. (20,50,56)

Investigaciones de campo han demostrado la importancia de los lotes de nuevo ingreso como fuente de infección, así como la capacidad de infección via aerógena. También se ha mencionado la transmisión por medio del agua de bebida. (2,10,24,50)

4.4. Morbilidad y Mortalidad:

Típicamente se observa alta morbilidad e insignificante mortalidad. Sin embargo se han descrito variaciones en la virulencia de las cepas, de modo que se pueden alterar tanto la duración del brote como la mortalidad. También pueden existir variaciones en la resistencia de las aves desde el nacimiento, las cuales pueden influir en el desarrollo de los brotes. (12,66)

Los investigadores están de acuerdo sobre la mayor severidad y duración de los brotes de CI en aquellos casos en que hay complicación con otros agentes; dentro de ellos: virus de viruela, *M. gallisepticum*, virus de bronquitis infecciosa, *Pasteurella* sp. y virus de laringotraqueítis infecciosa. (2,6,68)

5. Curso de la Enfermedad y Síntomas Clínicos:

Los síntomas clínicos se presentan luego de un período de incubación de 1-3 días, según la virulencia de la cepa y la susceptibilidad del ave. Característicamente

se observa descarga nasal que puede ir de serosa a mucoide, edema facial y conjuntivitis. (7,9,20,52)

Se puede producir diarrea, con disminución del consumo de agua y alimento. En aves en crecimiento el cuadro descrito implica incremento en el número de selecciones, y en ponedoras un descenso en la postura que va del 10 al 40%. También puede percibirse un olor desagradable en lotes en los que la enfermedad se ha vuelto crónica y hay complicación con otra bacteria. (52,69)

Las aves que se recuperan de la enfermedad presentan gran variación en sus grados de inmunidad. En general se considera que si las pollas en crecimiento padecen CI, estarán protegidas durante el período de postura. (2,68)

6. Mecanismos de Patogenicidad:

Es poco lo que se conoce sobre los mecanismos de patogenicidad de *H. paragallinarum*. Sawata y Kume sugirieron que los antígenos L y HA-L son los responsables de la adherencia a la superficie de la mucosa de los senos nasales. Más recientemente Sawata et al sugirieron que podría ser la cápsula de ácido hialurónico la principal estructura asociada con la virulencia, aún más que los antígenos HA-L y L. Además parece ser que la cápsula protege a la bacteria de la actividad bactericida normal del suero. (8,30,68)

7. Lesiones macroscópicas e histopatológicas:

A la necropsia se encuentra inflamación catarral aguda de las membranas mucosas de los senos nasales, tráquea y conjuntiva. No es frecuente encontrar neumonía ni aerosaculitis. (30,69)

Fujiwara y Konno estudiaron los cambios microscópicos a nivel de pasajes nasales, senos infraorbitales y tráquea, los cuales consisten en desprendimiento, desintegración e hiperplasia del epitelio glandular y mucoso, y edema e hiperemia con infiltración heterófila en la túnica propia de las membranas mucosas. Esta infiltración junto con la llegada de mastocitos y macrófagos pudiera ser la responsable de los severos cambios vasculares y daños celulares que acompañan a la CI. (12,68)

8. Diagnóstico:

Para diagnosticar CI es necesario conocer la historia del caso clínico, la observación de síntomas y lesiones, cultivo de muestras de exudado del seno nasal y realización de pruebas bioquímicas como pruebas de catalasa y oxidasa y producción de Indol. (7,8,27,30,69)

Sin embargo para una identificación más completa de *H. paragallinarum* se realizan las siguientes pruebas convencionales: pruebas de oxidasa y catalasa, requerimientos de factores X y V, requerimientos de CO₂ para el crecimiento, producción de betalactamasa, reducción de nitratos, producción de Indol y ureasa, y fermentación de glucosa, maltosa, fructosa, sucrosa, lactosa, manitol, manosa y xylosa, así como se muestra en el anexo No. 1. (1,8,9,32,41,69)

Actualmente existen métodos para el diagnóstico rápido de CI, que identifican efectivamente a *H. paragallinarum*. Entre ellos la tarjeta de identificación *Neisseria-Haemophilus* (Lab. Vitek Systems Inc., USA), así como también pruebas rápidas de disco y pruebas a base de enzimas cromogénicas. Sin embargo en un estudio realizado sobre 41 cepas de *H. paragallinarum* y 17 de *H. avium*, se encontró que la confiabilidad de los resultados depende de la marca de los discos y del medio de cultivo que se utilice. (10,23,32,33,53)

Para el diagnóstico diferencial de CI es necesario tomar en cuenta enfermedades tales como el cólera aviar respiratorio, enfermedad crónica respiratoria, viruela aviar y avitaminosis A. También es necesario considerar el síndrome de la cabeza hinchada. (8,9,24,30,69)

9. Tratamiento:

Para el tratamiento de CI se ha utilizado una amplia gama de drogas antimicrobianas, dentro de las cuales hay muchas que alivian los síntomas y abrevian el curso de la afección. Dentro de ellas encontramos las sulfas, enrofloxacin, eritromicina, estreptomycin, tetraciclina, etc. Existen también otras drogas probadas solo experimentalmente, pero que pudieran tener un gran potencial, tales como Aminobenzyl, penicilina, tiophenicol, novobiocina y myplabín. Sin embargo, no se ha encontrado que sean bactericidas. Por otro lado, la bacteria es capaz de desarrollar resistencia a algunas de ellas y suelen ocurrir recaídas al suspender el tratamiento. Las drogas antimicrobianas empleadas para tratar CI no son capaces de eliminar el estado de portador que persiste luego que desaparecen los síntomas clínicos. La literatura recomienda ciertas drogas como las más indicadas. De algunas de ellas haremos enseguida una descripción. (8,16,35,38,59,67)

9.1. Oxitetraciclina

Las tetraciclinas en general son inhibidores de la síntesis proteica que actúan a nivel de la porción 30S de los ribosomas. Este mecanismo de acción es de tipo bacteriostático, de modo que es necesaria una adecuada respuesta del sistema inmune. Son antibióticos de amplio espectro. Algunas bacterias han desarrollado resistencia a la familia, y dentro de las que son sensibles se dan grandes diferencias entre la CIM (conc. inhibitoria mínima) de un género a otro, y aún dentro de diferentes cepas del mismo género. Por ejemplo, de 97 aislamientos de *E. coli* en aves, el 5% resultó resistente, y de las sensibles la CIM varió de 1.56 a 6.25 mcg/ml. (29,49)

9.1.2. Toxicidad: existen pocos estudios realizados en aves. Por ejemplo, la toxicidad aguda (DL50) para la doxiciclina ha sido calculada en 2,500 mg/kg en pollos de una semana de edad. (29)

9.1.3. Absorción y metabolismo: la absorción luego de la administración oral es sumamente pobre. Los pollos absorben del 0.28 al 1% de la tetraciclina administrada por ésta vía, y en consecuencia en las heces se encuentran cantidades grandes de la droga. Por ejemplo, se administró alimento medicado al 0.05-1.795%, y con esta dosis se obtuvieron concentraciones en plasma de 1 mcg/ml, que son inefectivas contra gran número de bacterias. (26)

La absorción oral de las tetraciclinas también se interfiere por el consumo simultáneo de algunos cationes como calcio, magnesio, hierro y otros. El hierro incluido en suplementos vitamínico-minerales reduce la absorción de las tetraciclinas en aproximadamente 50%. (29,49)

La administración vía parenteral asegura concentraciones más altas en el plasma. Es necesario tomar en cuenta que muchas de las preparaciones tienen un pH demasiado bajo (2.4). Una oxitetraciclina de larga acción ha sido usada con éxito en aves a dosis de 52 mg/kg (Pfizer LA 200). (26,49)

9.2. Eritromicina

9.2.1. Mecanismo de acción y generalidades: es un antibiótico perteneciente al grupo de los macrólidos, los cuales actúan inhibiendo la síntesis proteica a nivel de la porción proteica 50s de los ribosomas. Se trata de una droga activa contra gran cantidad de bacterias gram positivas. Es activa además contra *Haemophilus sp.*, a pesar de que los gramnegativos son en general resistentes por la incapacidad de la eritromicina de penetrar pared y membrana celular. Algunos autores no la reconocen como indicada para tratar CI. Su efecto es bacteriostático. (5,9,14)

9.2.2. Toxicidad: No se mencionan efectos tóxicos en las aves ni reacciones de hipersensibilidad. (5,14)

9.2.3. Absorción y metabolismo: cuando se administra vía oral se consigue fácil absorción por duodeno y buena distribución a la mayoría de los tejidos. Si bien existe eliminación de la droga por las heces en concentraciones relativamente altas, hay poca alteración de la flora intestinal. (14,49)

9.3. Estreptomina

9.3.1. Generalidades y mecanismo de acción: es un antibiótico del grupo de los aminoglucósidos, los cuales son bactericidas, de amplio espectro y presentan efecto sinérgico con penicilinas y cefalosporinas. La estreptomina actúa inhibiendo la síntesis proteica a nivel de la subunidad ribosomal 30s. (14,26,29)

9.3.2. Toxicidad: la intoxicación aguda en pollos y pavos provoca grave depresión respiratoria que puede llegar a ser comatosa. Luego de administrar 150 mg/kg IM a pichones se observó la muerte de todos ellos. La DL50 de dihidro estreptomina base IM en pollitos de 1 y 4 semanas es de 744 mg/kg y 1,868 mg/kg respectivamente. (14)

A pesar de lo anterior, la toxicidad de la estreptomina es importante a largo plazo. Afecta más que todo los mecanismos vestibulares auditivos. La Gentamicina, que es otro aminoglucósido, produjo daños al aparato vestibular, pérdida del equilibrio y necrosis renal en pollos a dosis de 40 mg/kg. De cualquier modo, no hay estudios que demuestren la importancia que puedan tener los daños auditivos en las aves (29).

9.3.3. Metabolismo y absorción: la estreptomina se absorbe poco desde el tracto gastrointestinal. Tan poco, que en las heces puede encontrarse hasta 2/3 de la dosis o más. La absorción post-inyección IM es más rápida, así como la distribución a los tejidos. (14,26)

9.4. Enrofloxacin

9.4.1. Mecanismo de acción y generalidades: es una droga perteneciente al grupo de las fluoroquinolonas. Es un derivado del ácido quinolín carboxílico. El mecanismo de acción se basa en la inhibición de la enzima ADN-girasa, lo cual provoca una rotación axial negativa a la molécula, alterando así la síntesis proteica; de éste modo se bloquea la transferencia de información genética. Este mecanismo de acción produce un efecto bactericida. (4,25,26,49)

9.4.2. Toxicidad: la existencia de toxicidad provocada por enrofloxacin y en general por fluoroquinolonas es poco probable. Se menciona que son drogas bien toleradas, y más bien se habla de efectos adversos y no de toxicidad. Entre los efectos adversos encontramos anorexia y mareos. Se recomienda precaución al inyectar vía intramuscular porque es una droga muy irritante. (26,49,54)

9.4.3. Absorción y metabolismo: en humanos se obtiene rápida absorción luego de la administración vía oral, alcanzándose CIM para la mayoría de bacterias patógenas. Sin embargo en un estudio realizado en loros grises africanos se dió el fenómeno de marcada disminución del consumo del agua de bebida medicada en la medida en que se aumentaba la dosis de enrofloxacin en el agua. La conclusión fue que la efectividad del tratamiento dependería de la sensibilidad de la bacteria a dosis bajas. (4,25,26,49)

La actividad de las fluoroquinolonas tiende a ser menor a pH bajo, sin embargo esto varía según la bacteria de que se trate. Las fluoroquinolonas se caracterizan por ser bactericidas a concentraciones justo sobre la CIM. (4,49,54)

10. Resistencia de *H. paragallinarum* a drogas antimicrobianas

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), tanto en medicina humana como en medicina veterinaria existe el fenómeno de uso indebido de drogas antimicrobianas. Se menciona éste punto en especial porque el uso indiscriminado de este tipo de quimioterapéuticos es una de las principales razones que favorecen el desarrollo de resistencia bacteriana. OMS hace serias recomendaciones acerca del uso de dichos productos, tomando en cuenta las consecuencias que podrían derivarse si continúa el uso inapropiado. Sin ir muy lejos, los costos de los tratamientos se elevarían considerablemente porque ya no podrían usarse antibacterianos de costo relativamente bajo, necesitándose cada vez productos más caros y sofisticados. (63,64,65)

10.1. Aplicación clínica de las evaluaciones de susceptibilidad in vitro de *H. paragallinarum*:

En los estudios consultados de susceptibilidad in vitro de *H. paragallinarum* se han encontrado ciertos patrones de resistencia. Según Blackall y otros autores, los resultados de dichos estudios requieren una interpretación cuidadosa en aquellos casos en los que se van a tomar en cuenta las conclusiones de los estudios para administrar tratamiento cuando se presentan brotes de CI. (5,51)

La razón es que cuando las drogas antimicrobianas actúan in vivo, deben afrontar condiciones complejas, las cuales influyen notablemente las cualidades antimicrobianas de cada droga. Mientras tanto, cuando una droga es probada in vitro, tiene más posibilidades de expresar plenamente sus cualidades. Es difícil extrapolar resultados de una prueba in vitro para predecir como se comportará determinada droga interactuando con la bacteria, el huésped y el medio ambiente. (5,28)

En consecuencia, Greenwood propone que los resultados de pruebas de susceptibilidad in vitro se tomen más bien como indicadores de resistencia. Es decir que las pruebas no hacen más que sugerir las drogas que no deben usarse en un determinado caso, y no se debe pensar que expresan a que drogas una determinada bacteria debe ser sensible. (28)

10.2. Mecanismos de resistencia de *H. paragallinarum* a drogas antimicrobianas:

No existe conocimiento específico sobre los mecanismos de resistencia de *H. paragallinarum*, lo cual no quiere decir que no se hayan hecho esfuerzos para determinar la naturaleza de dichos mecanismos. (5,8,9,15,22,31,34,37,51,58,62)

Una de las conclusiones más sorprendentes a las que se ha logrado llegar es que la resistencia de *H. paragallinarum* a drogas antimicrobianas no se transfiere por medio de plásmidos. Este hecho resulta tanto más asombroso si se toma en cuenta que los plásmidos están involucrados en la transferencia de resistencia en más de 50 especies de bacterias, incluyendo *Haemophilus influenzae* y que se ha intentado detectarlos en el caso de *H. paragallinarum* por más de 5 técnicas diferentes. (5,6,8,51)

En *Haemophilus influenzae* los plásmidos están integrados a cromosomas, y en *Haemophilus ducreyi* existe resistencia mediada por plásmidos a los antibióticos beta-lactámicos, la cual está ampliamente diseminada. (5,19,36,62)

La estreptomicina es uno de los antibióticos a los que se ha encontrado resistencia más frecuentemente en *H. paragallinarum*. En éste caso específico la explicación probable es una mutación en las proteínas ribosomales o bien una reducida absorción del fármaco. Algo semejante se ha descrito en la resistencia que presenta *Haemophilus influenzae* al cloramfenicol. En este caso se menciona la existencia de una barrera de permeabilidad relativa al cloramfenicol, la cual debe sus características de poca permeabilidad a la pérdida de una proteína en la parte externa de la membrana celular de la bacteria. (5,15,17)

La resistencia a las tetraciclinas se ha enmarcado dentro de los llamados "determinantes de resistencia". Estos se definen como "unidades genéticas que se presentan en forma natural y que están generalmente contiguas, dentro de las cuales se incluyen todos los genes involucrados en la transferencia de resistencia". Existen varias nomenclaturas para los determinantes de resistencia. Una de las más recientes enumera de la letra A a la P. Al género *Haemophilus* le corresponden los determinantes B, comunes a los géneros *Yersinia* y *Vibrio*. (37)

Dentro del grupo de las quinolonas no se ha encontrado que se produzca resistencia mediada por plásmidos para ninguno de los géneros de bacterias estudiados. La resistencia en éste caso se explica como resultado de cambios en el

sistema de síntesis de ADN debidos a variaciones en la subunidad A de la enzima ADN-girasa. Otro estudio indica que la única forma como una bacteria puede volverse resistente a las quinolonas es mediante mutación cromosómica, a la que se califica como un mecanismo que difícilmente se presenta al estudiar los mecanismos de resistencia. Se puede prevenir durante largo tiempo la resistencia a las quinolonas mediante el uso combinado de drogas pertenecientes a este grupo con otro tipo de antibacterianos. Se menciona también la posibilidad de que se presente resistencia cruzada entre los miembros del grupo de las quinolonas. (3,22,45,49,55,58)

10.3. Estudios de susceptibilidad de *H. paragallinarum* a drogas antimicrobianas:

Existen al menos dos estudios en los que se evaluaron gran número de aislados provenientes de los cinco continentes. En uno de ellos se trabajaron 75 cepas y en el otro 92. En ambos casos las cepas provenían de Australia, Alemania, Japón, África del sur y Estados Unidos. Existe otro estudio realizado con cepas aisladas exclusivamente en la provincia de Victoria, en Australia, y otro más llevado a cabo en Alemania. (5,8,24,31,38,51)

Luego de observar los resultados obtenidos en dichos estudios, se puede afirmar que la droga a la que se observa resistencia más comunmente es la estreptomicina. En menor grado se han encontrado cepas resistentes a tetraciclinas y sulfonamidas. (5,8)

Para la interpretación de susceptibilidad o resistencia a los diferentes antimicrobianos se tomaron como base los criterios de Fales et al, los cuales aparecen en el anexo número 2.

V. MATERIALES Y METODOS

1. MATERIALES

1.1. Recursos Humanos

- Personal del Laboratorio de Patología Aviar

1.2. Materiales de Laboratorio

- tijera y pinza de disección
- asa bacteriológica
- mechero de Bunsen
- incubadora
- placas de Petri con agar sangre
- tubos de ensayo con 4-5 ml de caldo BHI
- 1 gramo de NAD en polvo
- agua destilada
- 1 tubo de ensayo con tapa de rosca
- 0.5 ml de 1.175% de cloruro de bario
- 9.95 ml de ácido sulfúrico 1%
- filtros para esterilizar de 0.45 micras
- hisopos estériles
- jeringas estériles de 1, 3 y 12 ml
- campana bacteriológica
- pinzas estériles
- placas de Petri con agar chocolate
- sensidiscos de los siguientes antimicrobianos: tetraciclina, eritromicina, estreptomina, enrofloxacina y sulfacloropirazina+trimetoprim
- tabla comparativa de halos de inhibición bacteriana

1.3 Material biológico

- los casos de aves enfermas de coriza infecciosa que se recibieron en el laboratorio de Patología Aviar durante el período comprendido entre Agosto '93 y julio '95
- embriones de pollo de 6 días de edad

1.4. Centros de Referencia

- Laboratorio de Patología Aviar

2. Métodos

2.1. Diseño Experimental

El diseño experimental está basado en la definición de bloques aleatorios. Cada uno de los bloques está formado por una placa de Petri con un cultivo puro de *H. paragallinarum*, y sobre el cual se evaluaron 5 drogas antimicrobianas. Se trabajó sobre 8 bloques con 3 repeticiones para cada uno, del tal modo que hubo 24 pruebas.

El halo de inhibición que exhibió cada uno de los antimicrobianos en cada prueba fue la variable a medir. Comparando los resultados obtenidos (los halos de inhibición) con los estándares para cada droga, dichos resultados se clasificaron como a continuación se explica:

1. susceptible: S
2. medianamente susceptible (intermedio): I
3. resistente: R

2.2. Procedimiento

Se recibieron aves sospechosas de padecer CI en el laboratorio de Omitopatología. Luego se confirmó si en realidad se trataba de coriza producida por *H. paragallinarum* y después se sometió el microorganismo aislado al antibiograma. Se registraron los resultados y se les aplicó el análisis estadístico para establecer la relación del resultado del antibiograma con la susceptibilidad o resistencia del microorganismo. El detalle del procedimiento es el siguiente:

- Eutanasia del ave
- Toma de la muestra para cultivo: se cauterizó la superficie de la piel que está sobre los senos nasales con una espátula calentada en el mechero. Enseguida se incidió la piel con tijera estéril, descubriendo así el seno nasal. Luego con el asa bacteriológica se tomó una muestra del contenido del seno nasal.

de la orilla de la placa distribuidos equidistantes entre sí por medio de un
plantilla de cartón

- Todo el trabajo se hizo cerca del mechero encendido para asegurar un trabajo sin contaminación.
- Se incubó a 36 grados por 24 horas y luego se leyeron los resultados.
- Interpretación de resultados: aunque existen parámetros para pruebas en caldo (Cuadro No. 2), la lectura se hizo según el estándar de inhibición de cada disco utilizado. Dependiendo de la medida del halo, los resultados se interpretaron como sigue:

cepas susceptibles: S

cepas moderadamente susceptibles: I (intermedias)

cepas resistentes: R

- Análisis de datos: para llevarlo a cabo se utilizó la prueba de Friedman. La fórmula establece en cual de las categorías se encuentra cada uno de los resultados mediante la medición de los halos de inhibición. El nivel de significancia es de 0.01 y la fórmula (estadístico de prueba) es la siguiente_

$$X^2_R = \frac{12}{NK(K+1)} \sum_{j=1}^K R_j^2 - 3N(K+1)$$

N= número de bloques

K= número de tratamientos

R_j= suma de rangos en la columna "j"

12 y 3 = constantes

VII. RESULTADOS Y DISCUSION

La parte experimental del trabajo consistió básicamente en la realización de 3 antibiogramas sobre cada uno de 8 cultivos puros y estandarizados de *Haemophilus paragallinarum*. El resultado de ello ha sido la determinación del comportamiento de las cepas de la bacteria al confrontarlas in vitro con los distintos antimicrobianos. El detalle de los resultados es como a continuación describiremos:

Las 8 cepas probadas fueron totalmente susceptibles a la tetraciclina, enrofloxacina y sulfaclopirazina sódica+trimethoprim (Cuadros No. 3 y 4, Gráficas 1 y 2). En todos los casos, el halo de inhibición fue bastante mayor que el mínimo propuesto para la calificación de susceptible. Tanto las tetraciclinas como las sulfonamidas son antimicrobianos de primera elección, y están indicadas para tratar CI en casos en que la bacteria demuestre susceptibilidad. Ahora vemos que de la muestra obtenida por nosotros, la efectividad de un eventual tratamiento con tetraciclinas o sulfaclopirazina +Trimethoprim, habría sido teóricamente del 100%.

La información es diferente a la reportada por el laboratorio de Patología Aviar en junio del 93. En un brote ocurrido en aquella fecha se reporta resistencia a tetraciclina, 2 tipos de sulfa (incluida la que ahora probamos) y además resistencia a fosfomicina. El brote ocurrió en una de las mismas granjas de las que se aisló *H. paragallinarum* para nuestro experimento. Esta información resulta muy interesante, porque son datos independientes a nuestro experimento que aportan información sobre la existencia de cepas resistentes a algunas clases de fármacos. Por otro lado, vemos también que la susceptibilidad a antimicrobianos de primera elección puede ser recuperada, ya sea dejándolos de usar por un tiempo o eliminando determinada cepa resistente a través de la desinfección de instalaciones.

En nuestra investigación encontramos cepas de *H. paragallinarum* que presentaron resistencia a fármacos diferentes que los del reporte mencionado. Por ejemplo, en cuanto a eritromicina, se observó que 2 de los casos presentaron resistencia. Otros 2 fueron encontrados como medianamente susceptibles y el 50% de ellos fueron susceptibles (Cuadros No. 4, 5 y Gráfica No. 3). Este resultado concuerda con los reportes de la literatura científica relativos a la alta frecuencia con que se observa resistencia a eritromicina. Al mismo tiempo, resulta curioso el hecho que la eritromicina

es un antibiótico recomendado comunmente para CI; de hecho esa fue una de las razones para incluirlo en nuestra investigación. Es decir, se le reconoce como indicado para CI, y al mismo tiempo se acepta la variación que *H. paragallinarum* puede presentar y ser resistente a este antimicrobiano.

El 62.5% de las cepas son susceptibles a la estreptomina. El 25% son medianamente susceptibles y el 12.5% son resistentes. Existe resistencia de algunas cepas a eritromicina o estreptomina, pero ninguna cepa es resistente a las dos a la vez (Cuadros No. 3 y 4). Aún cuando existen cepas resistentes a estreptomina (Gráfica No. 4), este antibiótico es una buena opción para el tratamiento de la enfermedad en casos de cepas susceptibles. Según las investigaciones previas consultadas, es posible que se desarrolle resistencia a prácticamente cualquier antimicrobiano, de modo que la observación de resistencia en algunos casos no debe ser un criterio para descartar una posible opción. La resistencia a por lo menos uno de los antimicrobianos incluidos en el experimento fue observada en el 75% de las cepas (Cuadro No. 5). La resistencia a sulfacloropiridazina no se encontró; esta es una evidencia de la utilidad que todavía pueden tener las sulfonamidas (Gráfica No. 5).

Haremos ahora una discusión de los resultados desde el punto de vista de los aspectos metodológicos de la investigación. De las 3 repeticiones (3 antibiogramas) realizadas sobre cada una de las pruebas, y los halos que observamos nunca fueron significativamente diferentes en ningún caso (Cuadro 5). Esto indica que en nuestra investigación, los resultados obtenidos in vitro son altamente confiables. Desde luego que los resultados in vivo no serían necesariamente iguales, por todas las limitantes que una prueba in vitro presenta. Otro punto importante es el relativo al tiempo que demora obtener un resultado. Nosotros registramos tiempos de duración de la prueba que variaron de 48 a 96 horas. La razón del largo tiempo que demoramos en obtener los resultados ha sido la estandarización del inóculo sembrado para realizar el antibiograma. Este paso evita errores de interpretación de resultados por exceso o escasez de inóculo sembrado, pero alarga por lo menos en 24 horas la prueba.

VIII. CONCLUSIONES

1. En Guatemala existen cepas de *H. paragallinarum* resistentes a algunos antimicrobianos específicos.
2. El antibiograma es una herramienta de gran utilidad para elegir el tratamiento idóneo para coriza infecciosa.
3. La realización de varios antibiogramas sobre la misma muestra ofrece mayor seguridad sobre los resultados.
4. Los antibiogramas realizados mediante el método de Bauer-Kirby presentan un alto nivel de confiabilidad.
5. El factor crítico en la realización de una prueba de susceptibilidad antibiótica sobre casos de coriza infecciosa es el tiempo. Por el método de Bauer Kirby no es posible tener resultados antes de 48 horas.
6. La susceptibilidad o resistencia que *H. paragallinarum* presenta a determinado tratamiento puede variar en plazos relativamente cortos.
7. La resistencia de *H. paragallinarum* a los quimioterapéuticos no se presenta con mucha frecuencia.
8. La tetraciclina, sulfacloropirazina+trimetoprim y la enrofloxacin son altamente efectivos in vitro contra *H. paragallinarum*.

IX. RECOMENDACIONES

1. Enviar aves sospechosas de padecer coriza infecciosa al laboratorio, tanto para confirmar el diagnóstico como para hacer antibiograma.
2. A nivel de laboratorio, repetir 2 ó 3 antibiogramas sobre la misma muestra. Dicha práctica reducirá nuestro margen de error.
3. Si se trata de hacer un trabajo de investigación sobre susceptibilidad antibiótica de *Haemophilus sp*, hay que estandarizar los inóculos mediante el nefelómetro de Mcfarland.
4. Aplicar tratamientos tomando como base los resultados del antibiograma. Dicha práctica nos ahorrará tiempo y dinero.
5. Reforzar las medidas de bioseguridad. Al final es lo mejor para evitar el apareamiento y diseminación de cualquier enfermedad.
6. Dada la alta incidencia de CI en Guatemala, es conveniente vacunar contra coriza infecciosa los lotes de reproductoras y ponedoras comerciales. Además hay que investigar la efectividad de la vacuna contra los serotipos de la bacteria presentes en la región.
7. Es necesario hacer más investigación sobre coriza infecciosa. Para el futuro, sería interesante hacer un trabajo que conjugara las variables de serotipo y resistencia a quimioterapéuticos. Hace falta también evaluar los métodos de control y asociaciones de virus y bacterias en los brotes de CI. Existe un sinnúmero de variables que no hemos medido en nuestra investigación y que será necesario tomar en cuenta en posteriores estudios.

X. RESUMEN

La coriza infecciosa es una enfermedad producida por la bacteria *Haemophilus paragallinarum*. Esta es un cocobacilo gramnegativo, catalasa negativo, que produce en las aves un cuadro caracterizado por inflamación periorbitaria, sinusitis y conjuntivitis. Las aves afectadas por la enfermedad padecen estados febriles que inciden en pérdida de apetito y baja de la producción.

Las aves enfermas con coriza infecciosa sufren debilitamiento de los mecanismos inmunohistológicos de las vías respiratorias altas y pueden infectarse de otros agentes patógenos. En estos casos podrían existir brotes con considerables niveles de mortalidad.

La parte experimental de nuestra investigación consistió en la realización de 3 antibiogramas sobre cada una de 8 cepas de *H. paragallinarum*. Antes de hacer cada antibiograma, se estandarizó el inóculo colocado en la placa con los sensidiscos mediante comparación con el estándar 0.5 del Nefelómetro de McFarland. Para conseguir que *H. paragallinarum* creciera en caldo BHI, fue necesario agregarle 20 ug/ml de NAD al caldo.

Los resultados obtenidos demuestran que existe resistencia a quimioterapéuticos específicos. El 25% de las cepas presentaron resistencia a la eritromicina, y otro 25% es medianamente susceptible. Esto deja solamente al 50% de las cepas con la calificación de susceptible. Los resultados son similares con la estreptomina, pues solamente el 62.5% de las cepas son susceptibles. Existe un 25% medianamente susceptibles y un 12.5% resistentes.

En general, existe resistencia a por lo menos uno de los quimioterapéuticos evaluados en el 75% de los casos. No obstante, no existe resistencia a tres de los quimioterapéuticos a la vez en ninguno de los casos. En cuanto a tetraciclina, enrofloxacin y sulfacloropirazina sódica+trimethoprim, la susceptibilidad es del 100%.

XII. ANEXOS

CUADRO No. 1

Diferenciación de las especies de *Haemophilus* de las aves mediante pruebas bioquímicas

PRUEBA	H. parag.	P. avium	P. volantium
Catalasa	-	+	+
Ornitina decarboxilasa	-	-	V
Beta-Galactosidasa	+	-	+
Fermentación de:			
-Arabinosa	-	-	+
-Fructosa	+	+	+
-Galactosa	-	+	+
-Lactosa	-	-	D
-Maltosa	+	-	+
-Manitol	+	-	+
-Manosa	+	+	+
-Sorbitol	V	-	V
-Sucrosa	V	+	+
-Triosa	-	+	+
-Xylosa	V	V	V
(6,29,63)			

Referencias:

- +: positivo (reacción en más del 90%)
- : negativo (reacción en más del 90%)
- V: reacción variable
- D: reacción débil

CUADRO No. 2

**Criterios de interpretación para determinar susceptibilidad
resistencia, tomando como base la concentración inhibitoria mínima (CIM).(5)**

DROGA ANTIMICROBIANA ug/	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE
AMPICILINA	menos de 8	más de 16
ERITROMICINA	menos de 2	más de 8
NEOMICINA	menos de 4	más de 16
PENICILINA	menos de 1	más de 16
ESTREPTOMICINA	menos de 4	más de 16
TETRACICLINA	menos de 4	más de 16

CUADRO No.3

Halos de inhibición en mm. registrados por los diferentes quimioterapéuticos en los antibiogramas realizados sobre aislados de *Haemophilus paragallinarum* en el laboratorio de Patología Aviar

LECTURAS REGISTRADAS PARA CADA PRUEBA						
MUESTRA	PRUEBA	Tetra	Enro	Eritro	Estrep	Sulfa+Trim
1	1	40	30	10	25	22
1	2	38	30	10	28	20
1	3	38	30	12	30	20
2	1	42	40	10	20	35
2	2	40	40	12	18	35
2	3	44	36	12	20	36
3	1	35	35	20	12	30
3	2	35	38	18	12	32
3	3	30	42	20	14	34
4	1	28	32	28	18	40
4	2	28	35	26	18	40
4	3	25	32	26	16	38
5	1	38	40	25	8	28
5	2	40	40	23	6	30
5	3	38	42	25	4	32
6	1	30	36	30	12	30
6	2	30	36	28	14	28
6	3	30	38	30	13	26
7	1	28	44	18	20	40
7	2	26	42	20	16	38
7	3	24	42	20	14	38
8	1	32	36	28	18	18
8	2	34	35	30	20	18
8	3	36	36	28	20	16

CUADRO No.4

Interpretación cualitativa de los halos de inhibición registrados por los diferentes quimioterapéuticos en los antibiogramas realizados sobre aislado: *Haemophilus paragallinarum* en el laboratorio de Patología Aviar

LECTURAS REGISTRADAS PARA CADA PRUEBA						
MUESTRA	PRUEBA	Tetra	Enro	Eritro	Estrep	Sulfa+Trim
1	1	S	S	R	S	S
1	2	S	S	R	S	S
1	3	S	S	R	S	S
2	1	S	S	R	S	S
2	2	S	S	R	S	S
2	3	S	S	R	S	S
3	1	S	S	I	I	S
3	2	S	S	I	I	S
3	3	S	S	I	I	S
4	1	S	S	S	S	S
4	2	S	S	S	S	S
4	3	S	S	S	S	S
5	1	S	S	S	R	S
5	2	S	S	S	R	S
5	3	S	S	S	R	S
6	1	S	S	S	I	S
6	2	S	S	S	I	S
6	3	S	S	S	I	S
7	1	S	S	I	S	S
7	2	S	S	I	S	S
7	3	S	S	I	S	S
8	1	S	S	S	S	S
8	2	S	S	S	S	S
8	3	S	S	S	S	S

CUADRO No. 5

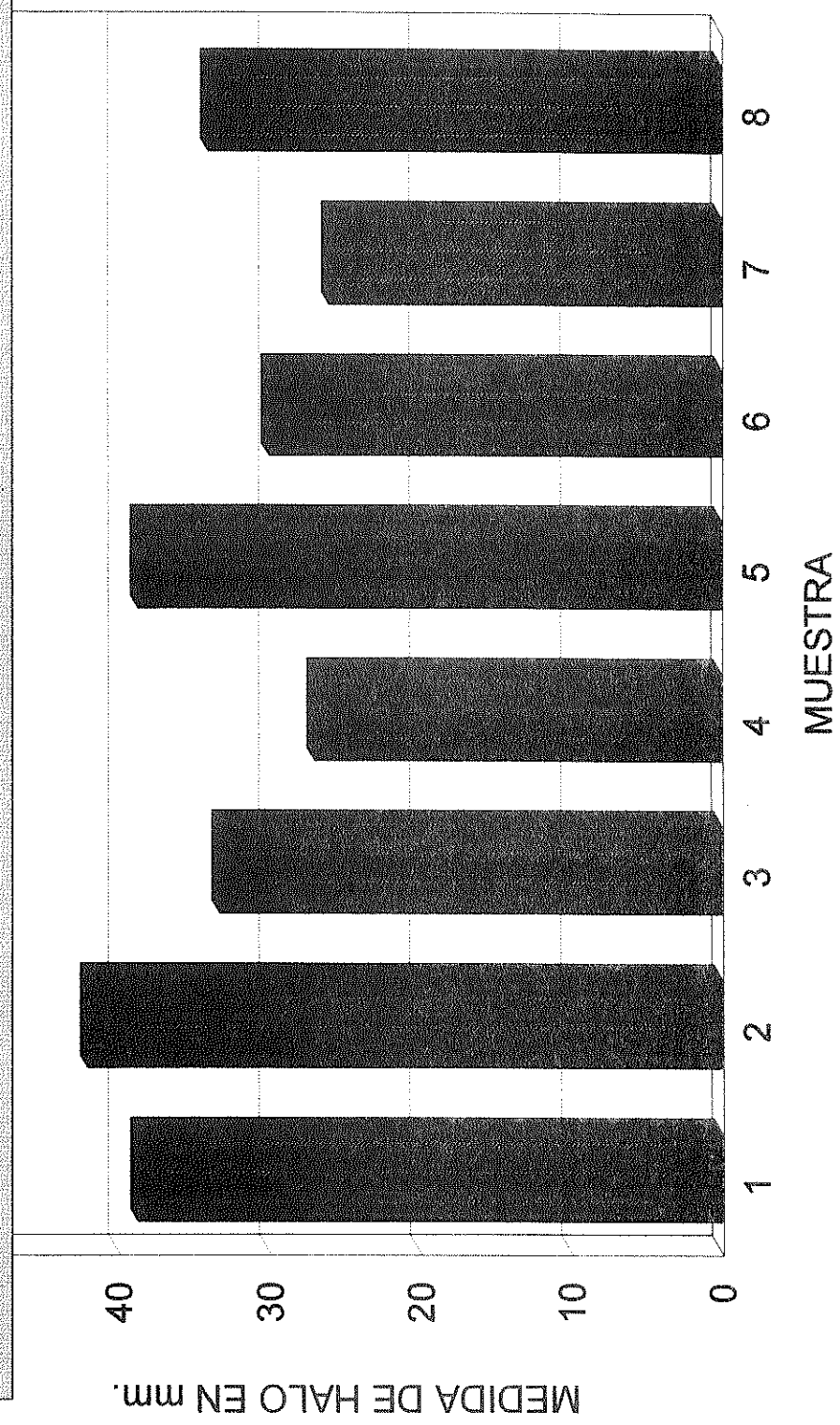
Dato obtenido al promediar los halos observados en cada uno de los 3 antibiogramas efectuados sobre cada cepa de *Haemophilus paragallinarum* aislada en el laboratorio de Patología Aviar

PROMEDIOS DE HALOS DE INHIBICION EN mm.					
MUESTRA	Tetra	Enro	Eritro	Estrep	Sulfa+Trim
1	38.7	30	10.7	27.3	20.6
2	42	38.7	11.3	19.3	35.3
3	33.3	35	19.3	12.6	32
4	27	33	26.6	17.3	39.3
5	38.7	40.7	24.3	6	30
6	30	36.7	29.3	13	28
7	26	42.7	19.3	16.6	38.6
8	34	35.7	29.3	19.3	17.3

GRAFICA No. 1

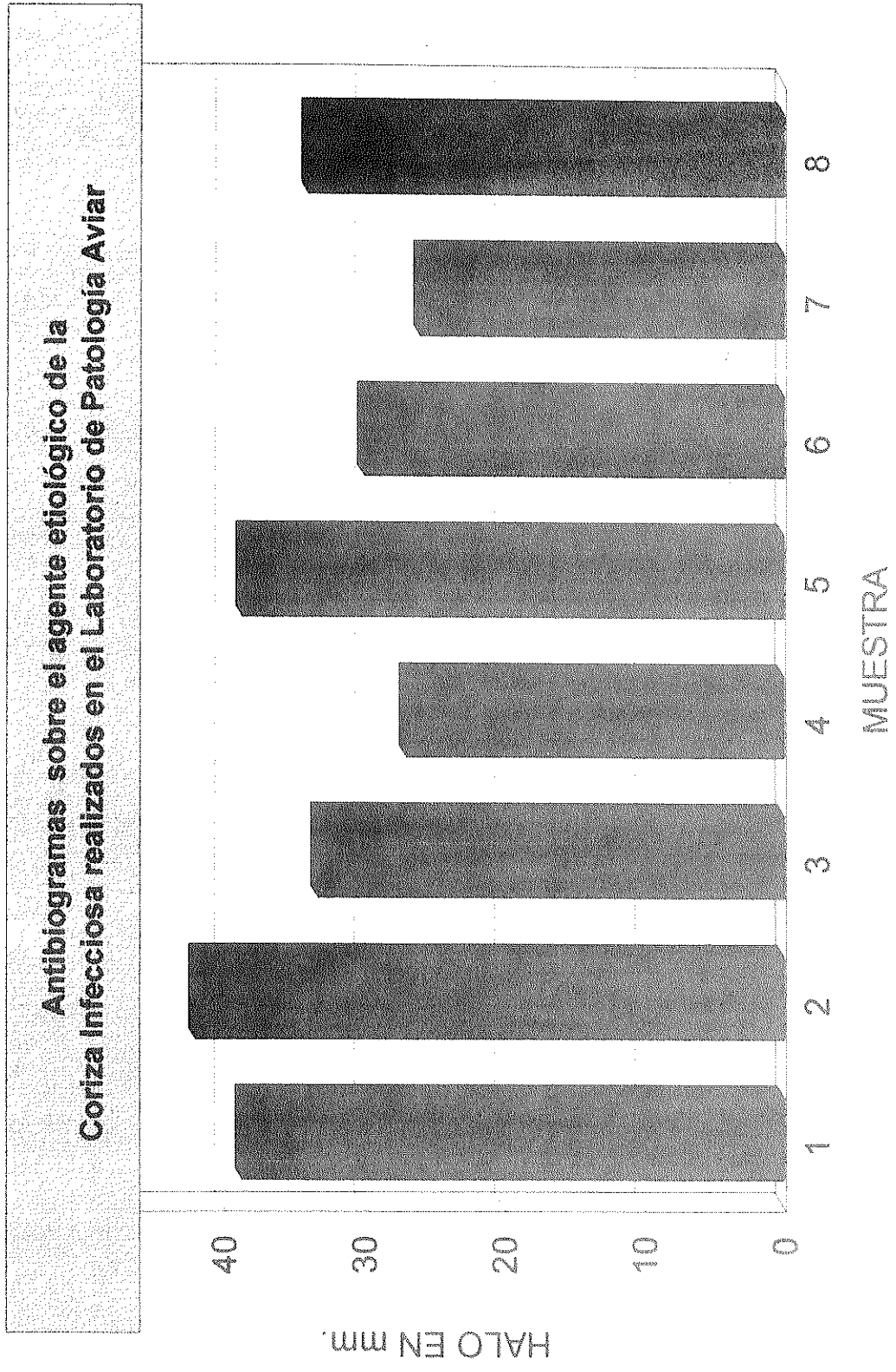
HALOS DE INHIBICION TETRACICLINA

Antibiogramas sobre el agente etiológico de la
Coriza Infecciosa realizados en el Laboratorio de Patología Aviar



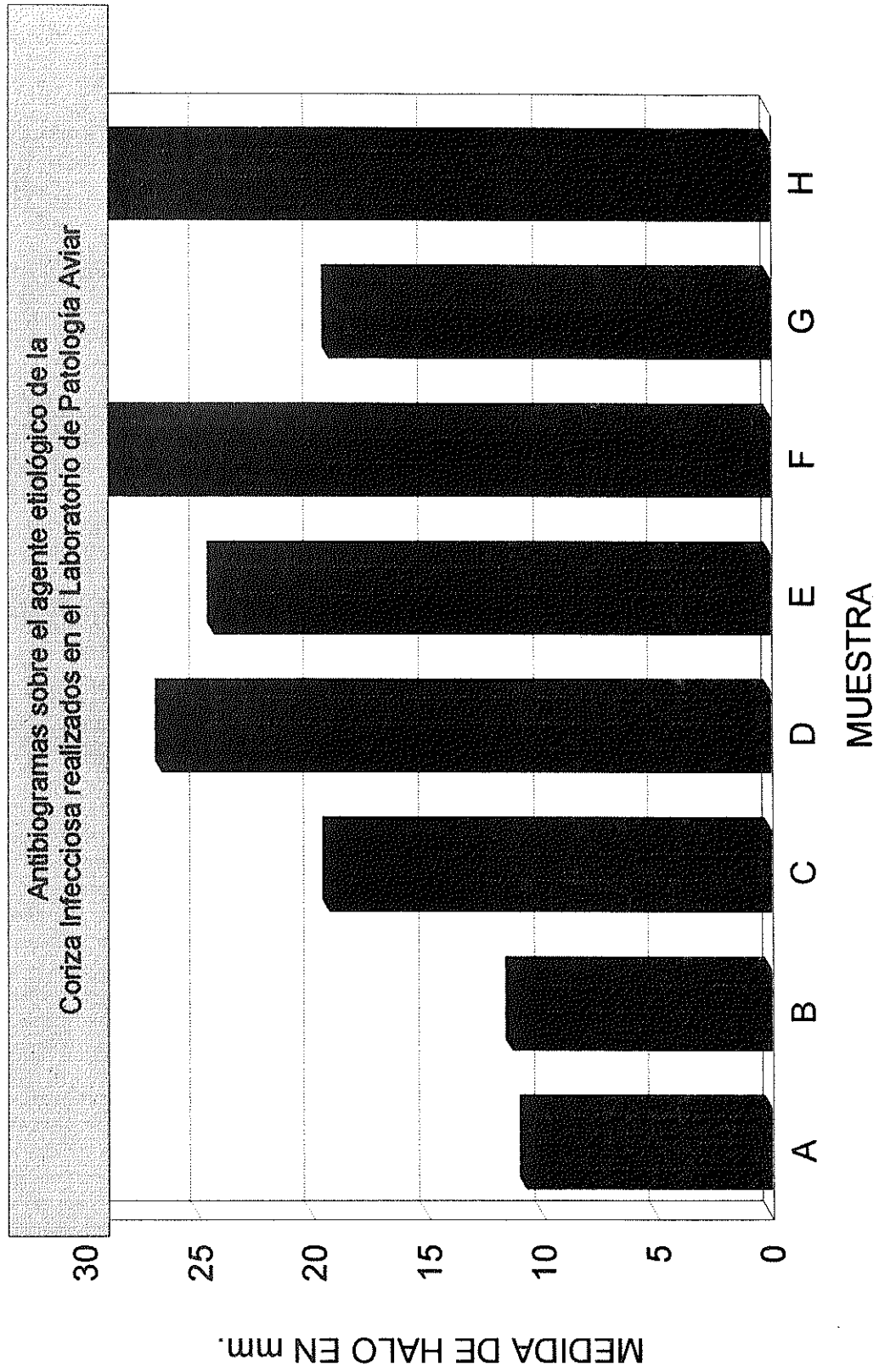
GRAFICA No. 2

HALOS DE INHIBICION PARA ENROFLOXACINA



GRAFICA No. 3

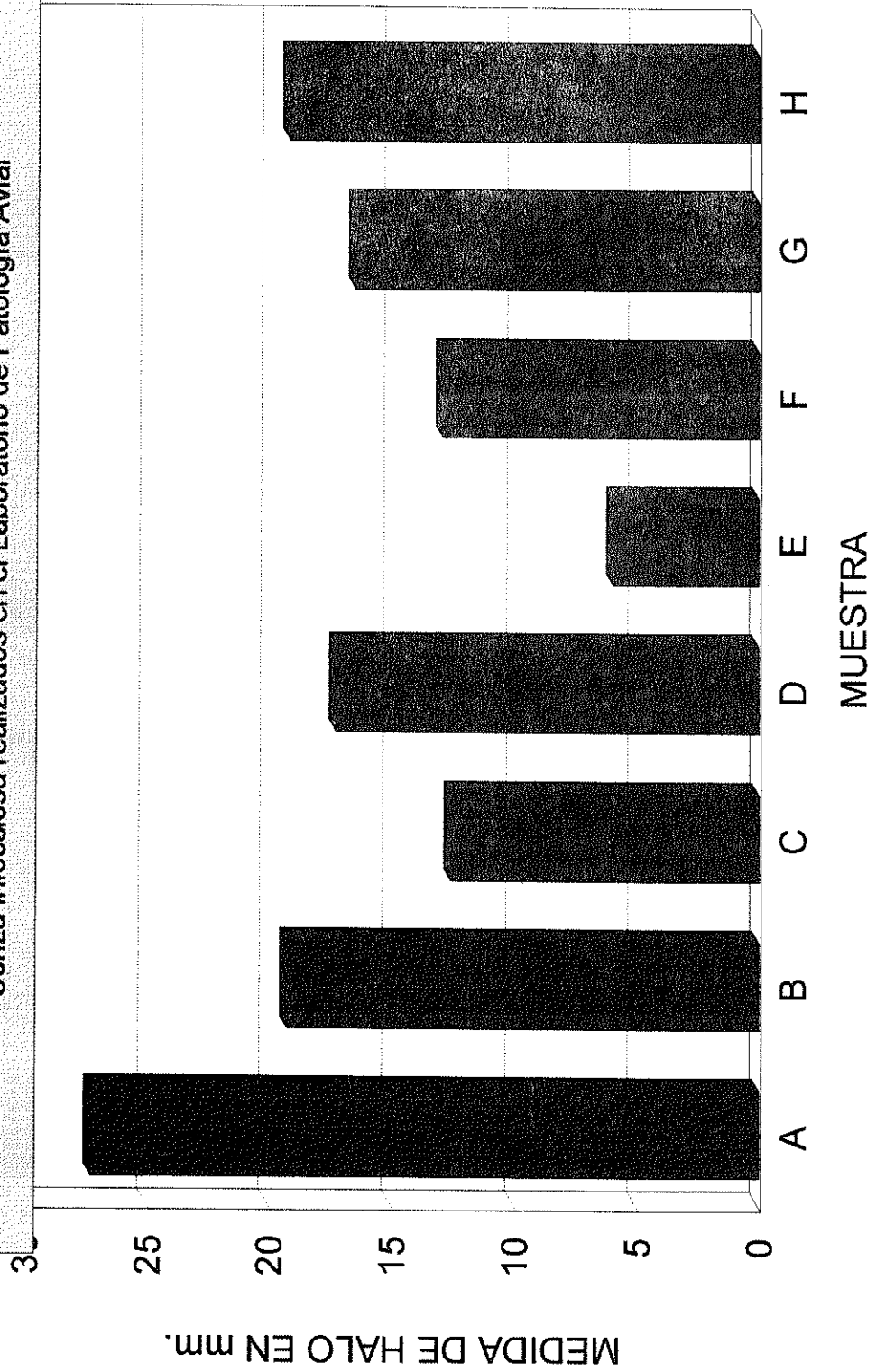
HALOS DE INHIBICION PARA ERITROMICINA



GRAFICA No.4

HALOS DE INHIBICION PARA ESTREPTOMICIN

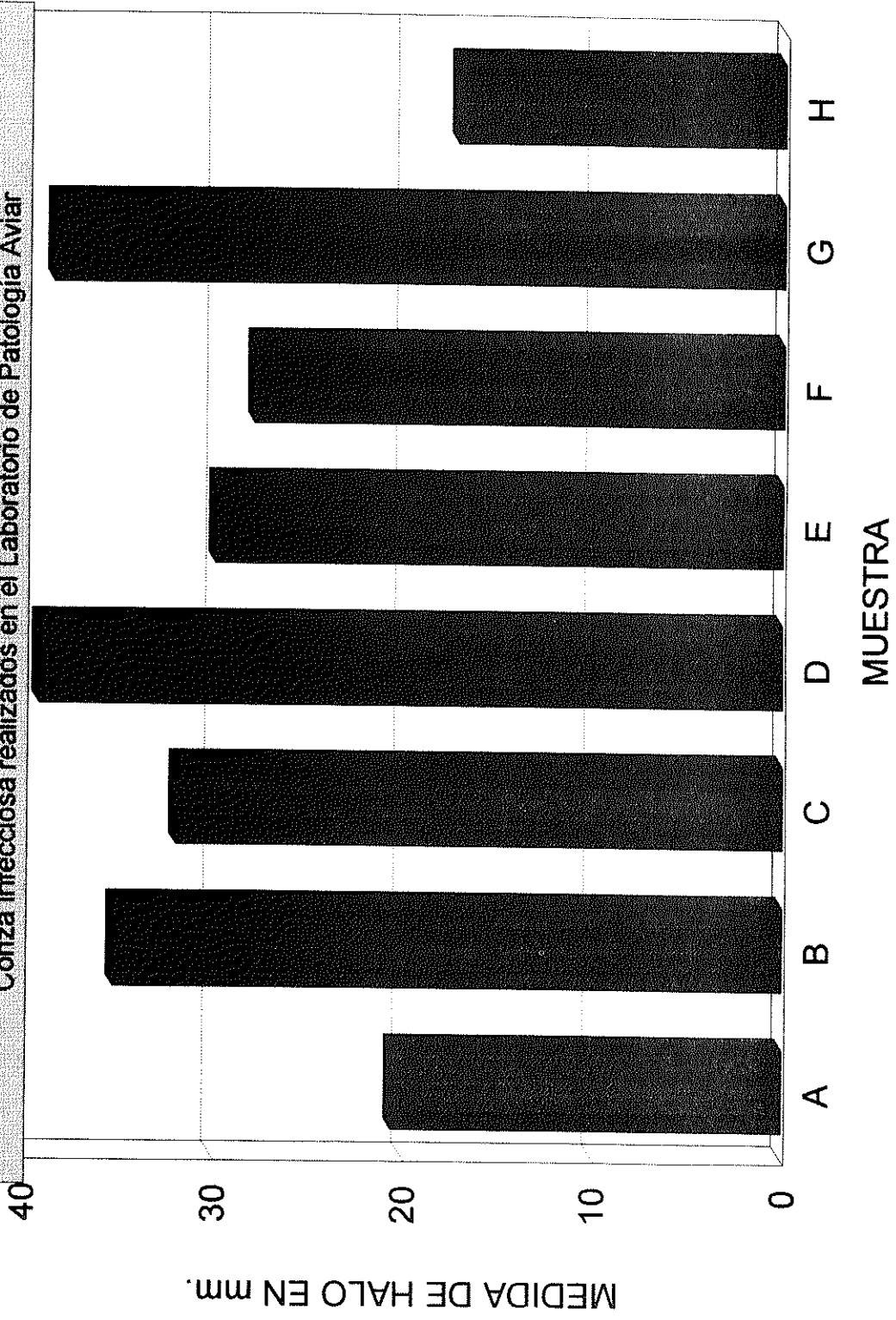
Antibiogramas sobre el agente etiológico de la
Coriza Infecciosa realizados en el Laboratorio de Patología Aviar



GRAFICA No. 5

HALOS PARA SULFACLOPIRAZINA+TRIMETHOPRIM

Antibiogramas sobre el agente etiológico de la
Coriza Infecciosa realizados en el Laboratorio de Patología Aviar



BIBLIOGRAFIA

1. ARTMAN, M.; FRANKL, G. 1982. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate splittin enzyme (s) of sheep and rabbit erythrocytes: their effect on the growth of *Haemophilus*. Canadian Journal of Microbiology (Can) 28(5): 696-702.
2. ARZEY, G. 1987. The effects of infectious coryza on the egg production of a layer flock. Australian Journal of Veterinary Medicine (Australia) 64(5): 985-988.
3. ASAHARA, M.; et al. 1989. In vitro and in vivo activities of a QA-241, a new tricyclic quinolone derivative. Antimicrobial Agents and Chemotherapy (EE.UU.) 33(8):1144-1152.
4. BEDARD, J.; BRYAN, L. 1989. Interaction of the fluoroquinolone antimicrobial agents ciprofolaxin and enoxacin with liposomes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy (EE.UU.) 33(8): 1379-1382.
5. BLACKALL, P.J. 1988. Antimicrobial drug resistance and the ocurrence of plasmids in *Haemophilus paragallinarum*. Avian Diseases (EE.UU.) 32(4):742-747.
6. ----- . 1988. Biochemical properties of catalase positive Avian Haemophili. Journal of General Microbiology (Inglaterra) 134 (10): 2801-2805.
7. ----- . 1994. Coriza infecciosa: una revisión. Investigaciones sobre coriza infecciosa del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y Laboratorios el Pilar. Argentina, INTA-LAPSA.
8. ----- . 1989. The avian haemophili. Clinical Microbiology Reviews (EE.UU.) 2(3); 270-277.
- 9.----- ; EAVES, L; ROGERS, G. 1989. Biotyping of *Haemophilus paragallinarum* isolates using hemagglutinin serotyping, carbohydrate fermentation patterns and antimicrobial drug resistance patterns. Avian Diseases (EE.UU.) 33(2): 491- 496.
- 10.----- ; FARRAH, J. 1985. An evaluation of commercial discs for the determination of the growth factor requirements of avian haemophili. Veterinary Microbiology (Holanda) 10(1): 125-131.

11. ----- ; REID, G. 1987. Further efficacy studies on inactivated, aluminum hydroxide-adsorbed vaccines against Infectious coryza. Avian Diseases (EE.UU.) 31(4): 527-532.
12. ----- ; YAMAMOTO, R. 1989. *Haemophilus gallinarum*, a re-examination. Journal of General Microbiology (Inglaterra) 135(2): 469-474.
13. ----- ; et al. 1990. Epidemiologic studies on infectious coryza outbreaks in northern New South Wales, Australia using serotyping, byotyping, and chromosomal DNA- restriction endonuclease analysis. Avian Diseases (EE.UU.) 34(2): 267-276.
14. BOOTH, N.H.; McDONALD, L. 1982. Farmacologia y terapéutica veterinaria. España, Acribia. p.29-94.
15. BURNS, J.; et al. 1985. A permeability barrier as a mechanism of cloramphenicol resistance in *Haemophilus influenzae*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy (EE.UU.) 27(1): 46-54.
16. BUYS, S. 1972. Haemophilus coryza: therapy with selected drugs. Journey of South African Veterinary Association (Africa del sur). 43 (4): 383-389.
17. CHAVEZ, M. 1989. Determinacion de resistencia antibiotica en bacterias asociadas con infecciones respiratorias agudas. Tesis Quimico-Biologo. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacia. p. 15-16.
18. DE BLIECK, L. 1931. Een haemoglobinophile bacteria als oorzaak van coryza infectiosa gallinarum. Tijdschr. Diergeneeskd. (Holanda) 58(4):310-314.
19. DE MARIA, A.; et al. 1989. Randomized clinical trial of aztreonam and aminoglycoside antibiotics in the treatment of serious infections caused by gram negative bacilli. Antimicrobial Agents and Chemotherapy (EE.UU.) 33(8): 1137-1143.
20. DE MOTTA, E.; SERRANO L. 1993. Coriza infecciosa. Laboratorio de Patologia Aviar. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. (Comunicacion personal).
21. DEVRIESE, L.; et al. 1988. Three cases of infection by Haemophilus-like bacteria in psittacines. Avian Patology (Inglaterra) 17 (7) :741-744.

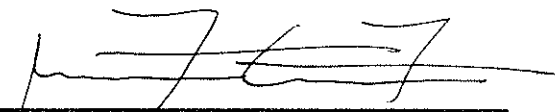
22. DICKGIESSER, N. 1985. Mode of action and mechanisms of resistance of DNA-gyrase inhibiting antibiotics. *Immuninfert (Alemania)* 12(6): 298-302.
23. DOERN, G.; et al. 1991. Quality control limits for disk diffusion and broth microdilution susceptibility tests with *Haemophilus* test medium. *Diagnostic of Microbiological Infectious Diseases (EE.UU.)* 14(6):485-493.
24. DROUAL, R.; et al. 1990. Infectious coryza in meat chickens in the San Jose Valley of California. *Avian Diseases (EE.UU.)* 34(8): 1009-1016.
25. FLAMMER, K.; AUCOIN, D.; PRUS, A. 1990. Plasma concentrations of enrofloxacin in african gray parrots treated with medicated water. *Avian Diseases (EE.UU.)* 34 (9): 1017-1022.
26. FORTH, W.; HENSCHLER, D.; RUMMEL, W. 1987. *Pharmakologie und toxicologie*. Alemania, Editorial Wissenschaftsverlag. p. 654-662.
27. GINI, G. 1995. Manual de procedimientos para la identificación de bacterias con importancia clínica. Guatemala, Editorial Merck. pp 83-86.
28. GREENWOOD, D. 1981. In vitro veritas? antimicrobial susceptibility tests and their clinical relevance. *The Journal of Infectious diseases (EE.UU.)* 44(4): 380-385.
29. HARRISON, G.; HARRISON, L. 1986. Clinical avian medicine and surgery. (EE.UU.) W.B. Saunders. p167, 319-326 y 450-451.
30. HINZ, K.H. 1990. Ansteckender huhnerschupfen. Institute for Poultry Disease. The School of Veterinary Medicine. Hannover, Alemania (Comunicación personal)
31. HINZ, K.; WILL, B. 1988. Antibacterial in vitro and in vivo efficacy of enrofloxacin against *Haemophilus paragallinarum*. *Berlin-Muenchen Tierarztliche Wochenschrift (Alemania)* 101(2): 409-412.
32. JANDA, W.; MALLOY, P.; SCHRECKENBERGER, P. 1987. Clinical evaluation of the *Neisseria-Haemophilus* identification card. *Journal of Clinical Microbiology (EE.UU)* 25(1):37-41.

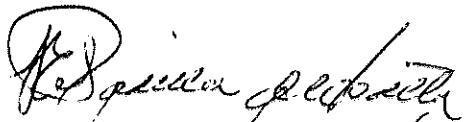
33. JONES, R.;ERWIN, M. 1992. Haemophilus test medium interpretive criteria for disk diffusion susceptibility tests with Cefnidir, Cefetamet, Cefmetazole, Cefpodoxime, Cefdaloxime, and Trospsectomycin. Diagnostic of Microbiological Infectious Diseases (EE.UU.) 15(8):693-701.
34. JORGENSEN, J.;HOWELL, A.;MAHER, L. 1990. Antimicrobial susceptibility testing of less commonly isolated Haemophilus species using Haemophilus test medium. Journal of Clinical Microbiology (EE.UU.) 28(5):985-988.
35. KATO, K.;TSUBAHARA, H.;TANIGUCHI, O. 1967. Infectious coryza of chickens. VI. Therapeutic effect of chlortetracycline-sulfadimethoxine tablets (TC-SD tablets) on chickens experimentally infected with Haemophilus gallinarum and on chickens involved in mixed infection with H. gallinarum and Mycoplasma gallisepticum. Bulletin of the National Institute for Animal Health (EE.UU.) 55(1): 35-39.
36. LEE, C.;HEYAN, L. 1989. Penicilin-binding proteins of Haemophilus ducreyi. Antimicrobial Agents and Chemotherapy (EE.UU.) 33(6): 983-986.
37. LEVY,S.; et al . 1989. Nomenclature for tetracycline resistance determinants. Antimicrobial Agents and Chemotherapy (EE.UU.) 33(8): 983-986.
38. LUY,S.; et al . 1983. Drug sensitivity test of Haemophilus paragallinarum isolated in Taiwan. Veterinary Medicine and Animal Husbandry (Taiwan) 41(1): 73-76.
- 39.MANNHEIM, W. 1990. Isolierung und identifizierung von pasteurellacea. DGMH- Verfahrensrichtlinien (Alemania) 272 (1): 87-109.
40. Manual Merck de Veterinaria. 1988. Edit. Centrum. 3era. ed. en Español. (España) pp 1514.
41. Manual de Procedimientos y Productos BBL. 1974. Editores Asociados. (Mexico) pp.35-38 y 60-61.
42. Manuel Veterinaire. 1988. Institut de ´élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux. Ministere d la cooperacion et du developpment. Edit. La Documentation Francaise. 2da. ed. (Francia) pp.211
43. MATZER, N. 1990. Experiencias sobre enfermedades respiratorias en Centro América. El Informador Avícola (Guatemala) 44(7):18-19.

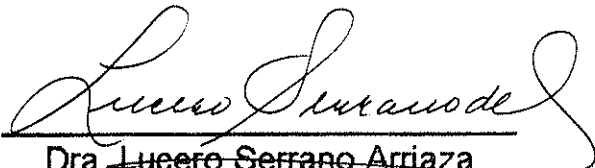
44. MUTTERS, R.; et al. 1985. *Pasteurella avium* (Hinz and Kunjara, 1977) comb. nov. and *Pasteurella volantium* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* (EE.UU) 35(1): 5-9.
45. NAKAMURA, S.; et al. 1989. In vitro and in vivo antibacterial activities of AT-4140, a new broad spectrum quinolone. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (EE.UU) 33(8):1167-1173.
46. PELCZAR, R.; et al. 1989. *Microbiologia*. Edit. MacGraw Hill. 4ta. ed. (México).
47. PIECHULLA, K.; et al. 1985. Genetic and phenotypic comparison of three new Avian *Haemophilus*-like taxa and *Haemophilus paragallinarum* Biberstein and White 1969 with other members of the family Pasteurellacea Pohl 1981.
48. PIECHULLA, K.; HINZ, K.; MANNHEIM, W. 1985. Taxonomy of some recently described Avian *Pasteurella/Actinobacillus*-like organisms as indicated by Deoxyribonucleic acid relatedness. *Avian Pathology* (Inglaterra). 14(1):281-311.
49. PRESCOTT, J.; BAGGOT, D. 1988. *Antimicrobial therapy in Veterinary Medicine*. Blackwell Scientific Publications. 1era. ed. (EE.UU) pp. 221-233.
50. RASHID, R.; POCIECHA, J. 1984. Epidemiologic study of an outbreak of infectious coryza on a poultry farm on Irak. *Avian Diseases* (EE.UU.) 28(1): 253-257.
51. REECE, R.; COLOE, P. 1985. The resistance to antimicrobial agents of bacteria isolated from pathological conditions of birds in Victoria. *Australian Veterinary Journal* (Australia) 62(11): 379-381.
52. REID, G.; BLACKALL, P.J. 1984. Pathogenicity of Australian isolates of *Haemophilus avium* in chickens. *Veterinary Microbiology* (Holanda) 35(9):77-82.
53. RENNIE, R.; et al. 1992. Laboratory and clinical evaluations of media for the primary isolation of *Haemophilus* species. *Journal of Clinical Microbiology* (EE.UU.) 30(8):1917-1921.
54. RUDRIK, J.; FERRIGNO, S.; GEE, S. 1991. In vitro activity of Sparfloxacin (AT-4140 and I-8), a new quinolone antimicrobial agent against *Haemophilus* and Gram-positive cocci. *Diagnosis of Microbiological Infectious Diseases*


55. SAKAGUCHI, Y.; et al. 1992. Esoxacin, one derivative: its in vitro antibacterial activity against chicken pathogens. Proceedings of the 18th World's Poultry Congress.
56. SANDOVAL, V.; et al. 1994. Investigaciones sobre coriza infecciosa en la Argentina. Investigaciones sobre coriza infecciosa del Instituto nacional de tecnología agropecuaria y Laboratorios El Pilar. INTA-LAPSA, Argentina.
57. SAWATA, A.;KUME, K.;NAKAI, T. 1984. Susceptibility of Haemophilus paragallinarum to bactericidal activity of normal and immune chicken sera. Japanese Journal of Veterinary Science (Japan) 46(6):805-813.
58. SMITH, J. 1986. Frequency and expression of mutational resistance to the four-quinolone antibacterials. Scandinavian Journal of Infectious Diseases Suecia 49(3): 115-123.
59. SUMANO, H.;OCAMPO, L. 1987. Estudio cinético comparativo de tres combinaciones de sulfonamida-trimetropim en gallinas White Leghorn sanas y enfermas de coriza infecciosa (Haemophilus gallinarum). Revista Veterinaria Mexicana (México) 18(1):21-26.
60. TERZOLO, H.; et al. 1993. Characterization of isolates of Haemophilus paragallinarum from Argentina. Avian Diseases (EE.UU.) 37(4):310-314.
61. WEASTLER, D. 1990. Orientacion a la quimioterapuética de la c o - lisepti cemia de los pollos. Tesis Médico Veterinario. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
62. WEINBERG, G.; et al. 1990. Patrones de Sensibilidad de los aislados de Haemophilus de niños de once países en desarrollo. Bulletin of the World Health Organization. (Suiza) 68(2):145-151.
63. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1990. Antibiotic prescribing: patterns of use in community practice. WHO drug information. (Suiza). 4(3):120.
64. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1983. Antimicrobial resistance. Report of an working group. Bulletin of the WHO (Suiza) 61(3): 383-394.
65. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1983. Control of the antibiotic resistant bacteria: Memorandum from a WHO meeting. Bulletin of the WHO. (Suiza) 61(3): 423-433.

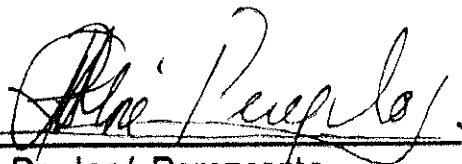
66. YAMAGUCHI, T.; et al. 1990. Pathogenicity and serovar-specific hemagglutinating antigens of *Haemophilus paragallinarum* serovar B strains. *Avian Diseases*. (EE.UU.) 34(7): 964-968.
67. YAMAMOTO, K. 1988. Myplabin (miporamycin), a new macrolide antibiotic. II. Clinical effects of Myplabin premix against respiratory mycoplasmosis and infectious coryza in chickens. *Proceedings of the 18th. World's Poultry Congress*. pp. 1256-1258.
68. YAMAMOTO, R. 1987. Infections coryza. In: *Diseases of Poultry*. 9na. ed. Editado por M. Hofstad, H. Barnes, B. Calnek, W. Reid y W. Yoder. Iowa State University Press. (EE. UU.) pp. 186-195.
69. YAMAMOTO, R. 1984. Infectious coryza. In: *Isolation and identification of avian pathogens*. 2da. ed. Publicado por The American Association of Avian Pathologists (EE.UU.) pp. 16-18.


Br. José Mariano Carrera Fuentes


Dra. Elizabeth Padilla de Motta
Asesora Principal


Dra. Lucero Serrano Arriaza
Asesora


Dr. Jaime Méndez
Asesor

Imprímase: 
Dr. José Pérezcanto
Decano