

22
24j



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

**Estudio "in vitro" de la Ciprofloxacina, en
comparación a otros fármacos empleados
comúnmente en la Terapia del
Micetoma Actinomicético**

T E S I S
Que para obtener el Título de:
Químico Farmacéutico Biólogo
P R E S E N T A
Lilia Bernal Benítez

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Mayo

1990



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.

I N D I C E

	Pág.
Introducción	
Objetivos	3
Generalidades:	
I. <u>Micetoma</u>	
1.1 Micetoma actinomicético.	
a) Definición	4
b) Aspectos epidemiológicos: distribución geográfica, fuente de infección y hábitat, vía de entrada, - sexo y edad, ocupación, período -- de incubación y factores predisponentes.....	4
c) Frecuencia.....	8
d) Etiopatogenia	8
e) Aspectos clínicos: Topografía, - morfología y sintomatología.....	9
f) Diagnóstico diferencial.....	11
g) Diagnóstico de laboratorio: examen directo, cultivo, biopsia, -- pruebas inmunológicas, rayos X e - inoculación en animales.....	12
h) Pronóstico.....	15
i) Tratamiento.....	15
j) Profilaxis.....	17

	Pág.
1.2 Aspectos microbiológicos del actinomicetoma:	
a) Género <u>Nocardia</u>	18
b) Género <u>Actinomadurae</u>	20
c) Género <u>Streptomyces</u>	21
1.3 Características bioquímicas del género <u>Nocardia</u>	22
1.4 Características bioquímicas del género <u>Actinomadurae</u> y <u>Streptomyces</u>	23
II. <u>Ciprofloxacina</u>	
a) Química	24
b) Espectro antibacteriano.....	27
c) Mecanismo de acción.....	29
d) Actividad bactericida.....	32
e) Resistencia bacteriana.....	36
f) Farmacocinética.....	38
g) Eliminación.....	41
h) Toxicidad.....	42
i) Genotoxicidad.....	43
Material.....	44
Justificación.....	48
Metodología.....	49

	Pág.
Resultados y gráficas.....	53
Estadística.....	61
Discusión.....	66
Comentario.....	77
Conclusiones.....	78
Bibliografía.....	80

I N T R O D U C C I O N

El micetoma es la principal micosis profunda (subcutánea) en México (60%), tiene dos variedades: La producida por actinomicetos o actinomicetoma, y la producida por hongos verdaderos o eumicetoma; la primera es la que observamos en mayor cantidad en México (95%), y de éstos predomina etiológicamente N. brasiliensis. Por estas razones, la terapia de los micetomas en México, ha sido relativamente fácil, debido a que esta especie en particular es la más sensible a diversos fármacos. El tratamiento de los actinomicetomas se inició empleando diaminodifenilsulfona (DDS) en 1947 por Latapí, y hasta la fecha sigue siendo la terapia de base para la mayoría de estos casos; en la actualidad se combina con algunos otros productos, sobre todo con trimetoprim-sulfametoxazol. En términos generales este esquema terapéutico ha dado buenos resultados, aunque algunos pacientes presentan efectos colaterales (hematológicos), generan resistencia o simplemente no lo toleran; por lo tanto, es necesario que se cuente con nuevas posibilidades terapéuticas; así surgió el uso de algunos otros antibacterianos como la fosfomicina, estreptomycin, y recientemente la amikacina.

Las quinolonas son un nuevo grupo químico, tienen su principal acción contra bacterias gramnegativas y grampo-

sitivas, pero también microorganismos como las micobacterias son actinomicetos similares morfológica y fisiológicamente, es de pensarse que este tipo de productos puedan tener acción frente a cepas de Nocardia, Actinomadurae y Streptomyces.

El objetivo de este trabajo, es comprobar cualitativa y cuantitativamente la actividad "in vitro" de la ---- CIPROFLOXACINA (quinolona), frente a diferentes cepas de actinomicetos que se han aislado de nuestra patología, y de manera concomitante, hacer una comparación de la actividad "in vitro" contra los fármacos más empleados en la terapia de este padecimiento, tales como el trimetoprim--sulfametoxazol, estreptomina, fosfomicina, diaminodifenilsulfona (DDS) y amikacina.

O B J E T I V O S:

- 1) Comprobar la acción "in vitro" de la ciprofloxacina - frente a diferentes cepas productoras de micetoma actinomicético.
- 2) Establecer las ventajas y desventajas de dicho fármaco como probable nueva terapia para micetoma.
- 3) Comparar la acción "in vitro" de la ciprofloxacina -- con otros fármacos empleados comúnmente en la terapia de dicho padecimiento.

"EL MICETOMA ACTINOMICETICO"

Definición: El micetoma actinomicético es un síndrome -- anátomo-clínico de tipo inflamatorio cróni-- co, constituido por aumento de volumen, de-- formación de la región que afecta y con le-- siones de aspecto nodular, fistulizadas, de-- donde drena un exudado filante, que contiene las formas parasitarias denominadas "granos"; su etiología se debe a diversos actinomicet-- tos aerobios (bacterias filamentosas). (1)

El término micetoma ("tumor por hongos"), aunque no es del todo correcto, se ha manejado desde 1860 hasta la fecha. Algunos sinónimos del micetoma son: Pie de Madura, Maduromicosis, Pie de Elefante. (1)

ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

- a) Distribución geográfica: Se presenta en zonas generalmente vecinas al Trópico de Cáncer, que comprenden a los países con dos tipo de climas: subtropical y - tropical senegalés con un promedio de precipitación - pluvial anual de 500-1000 mm y con rangos de temperatura entre 10-20°C y 20-40°C.

El clima es un factor que no sólo influye en el número de casos, sino también en los tipos de agentes etiológicos. De esta forma se observa que en Africa e India predominan los micetoma eumicéticos, ya que estos continentes presentan un clima más tropical (senegalés), con un rango de temperatura mayor (20-45°C); en cambio en América y sobre todo en México y Venezuela, son más frecuentes los micetomas actinomicéticos, ya que ambos países poseen un clima subtropical, con un rango de temperatura menor (10-25°C). Las zonas geográficas en México donde se observan la mayor parte de los casos de micetoma actinomicético son cuatro: Guerrero-Morelos, Norte de Veracruz, Sur de Nuevo León y Sur de Sinaloa. En Europa y Norteamérica se comunican casos esporádicamente. (1, 2, 3)

- b) Fuente de infección y hábitat: Los actinomicetos productores de micetoma, se aíslan de la naturaleza, tierra, detritus vegetal, madera, y en diversas plantas, relacionándose con las acacias (espinas). No se ha reportado transmisión de hombre a hombre. (1, 2)
- c) Vía de entrada: Es cutánea a través de traumatismos, los agentes etiológicos penetran por medio de una solución de continuidad, por ejemplo por espinas, astillas de madera, clavos, piedras, patadas de animales-

(mulas, burros), mordeduras de reptiles, etc. Debido a esto, la topografía predominante del padecimiento es en los pies. (1,3)

- d) Sexo y edad: Los micetomas son más frecuentes en el sexo masculino que en el femenino, en una relación de 5:1; para algunos autores esto es un reflejo de la ocupación, pero considerando que en México la mujer al igual que el hombre desarrolla labores en el campo, se encuentra sujeta a la misma probabilidad de inoculación. (1)

Existe un predominio de la mayoría de las cepas hacia el sexo masculino, a excepción de A. madurae -- que se presenta con mayor frecuencia en el femenino. El hecho de que el hombre presente una mayor probabilidad de padecer micetoma, quizá no sea solamente debido a la influencia de la ocupación, tal vez intervengan factores hormonales, mismos que se manifiestan en casos de mujeres embarazadas con micetomas que sufren una exacerbación del padecimiento durante el embarazo. Es por ello, que probablemente el micetoma no se manifieste antes de la pubertad. (1, 3)

Por lo que a la edad respecta, el micetoma es --

más frecuente entre la 3a. y 5a. década de la vida,-- por ser la edad más productiva. El micetoma es EXCEPCIONAL en niños. (1)

- e) Ocupación: El micetoma es un padecimiento propio de campesinos, obreros, mecánicos, amas de casa y personas que trabajan en condiciones rudimentarias, sin -- protección de zapatos cerrados. La ocupación también influye en la topografía clínica, por ejemplo los leñadores lo adquieren fácilmente por cargar madera, -- paja, etc. sin la mínima protección. (1,2)

- f) Período de incubación: La enfermedad se puede manifestar desde algunos meses hasta años dependiendo de ciertas condiciones como son: Tamaño del inóculo, -- virulencia de la cepa y sobre todo el estado inmunitario del huésped. (1)

- g) Factores predisponentes: Sólo se encuentran aquéllos relacionados con la ocupación. (1)

FRECUENCIA

El micetoma es la micosis profunda (subcutánea) más frecuente en México (65%). Aunque no representa un problema de salud pública, es importante ya que puede generar invalidez del miembro afectado. El hecho de presentarse en tórax o cráneo, puede originar severas complicaciones e inclusive la muerte. (1, 2, 3)

ETIOPATOGENIA

Los agentes etiológicos del micetoma actinomicético se presentan en la tabla siguiente:

Actinomicetos	}	<u>Nocardia</u>	<u>asteroides</u> <u>brasiliensis</u> (85%) <u>otitis-caviarum</u> (<u>caviae</u>)
		<u>Actinomadurae</u>	<u>madurae</u> (10%) <u>pelletieri</u>
		<u>Streptomyces</u>	<u>somaliensis</u> (4%) <u>paraguayensis</u>

Los agentes causales del micetoma actinomicético vi-

ven saprofiticamente en el medio ambiente, y penetran en el huésped por medio de traumatismos (espinadas, astilladas), desarrollando masas compactas de micelio denominadas "granos". Esta agrupación se debe a que en esta forma son más resistentes y ocupan un menor espacio. El período de incubación es indeterminado. La lesión crece lentamente por contigüidad avanzando al tejido subcutáneo, muscular, conjuntivo y óseo. Se forma una reacción inflamatoria compuesta por polimorfonucleares (PMN) y fibrosis. Existen fístulas interconectadas entre sí, a través de las cuales se expulsan los granos y exudado filante. La diseminación de los micetomas por vía linfática y hematogena es rara. (1, 3)

ASPECTOS CLINICOS

- a) Topografía: La topografía más común es en miembros inferiores (70%), por encontrarse más expuestos a traumatismos. Con mayor frecuencia se presenta en el pie (50%), principalmente a nivel de la articulación-tibiotalar y en menor proporción en la planta y dedos; el resto se presenta en piernas, rodillas, huecos poplíteos, muslo, cadera, nalgas y región perianal por la costumbre de algunas personas de realizar la limpieza anal con hojas, ramas, etc. Se presenta también en espalda y nuca (15%). El 10% de los casos

restantes se dan en miembros superiores afectándose -- sobre todo manos, brazos y codos. Igualmente se re-- portan casos en abdomen, cara anterior de tórax, es-- croto, vulva, cara y cráneo, siendo este último de -- muy mal pronóstico. (1, 2)

Es muy raras ocasiones se presentan micetomas -- múltiples, los cuales se originan por multi-inocula-- ciones o por metástasis linfática (por ejemplo: pie e ingle). (1)

- b) Morfología: La mayor parte de los micetomas cursan -- con aumento de volumen y deformación de la región a-- fectada, presencia de lesiones de aspecto nodular, -- fistulizadas, de las que drena un exudado filante y -- seropurulento que contiene a los "granos" (formas pa-- rasitarias) microscópicos (Nocardia) o macroscópicos-- (A. madurae). (1)

Los fenómenos osteolíticos dependen de tres cir-- cunstancias: estado inmune del paciente, de la cro-- nicidad y del agente etiológico. Los agentes causales más osteofilicos son: N. brasiliensis y A. madurae. La osteolisis se lleva a cabo preferentemente en huesos pequeños como falanges, metatarsianos, rótulas, -- vértebras, etc, ya que éstos son menos resistentes -- que los grandes. Es por esto, que localizaciones en-

la espalda pueden afectar vértebras, generando fenómenos parapléjicos debidos a la compresión medular. - En una topografía torácica lateral, se puede afectar pulmón (expectoración con granos). (1, 3)

Los micetomas producidos por N. brasiliensis y A. pelletieri son más inflamatorios, polifistulizados y osteolíticos; en cambio, los causados por A. madu--
rae y S. somaliensis, son más leñosos, fibrosos y con menos fístulas, pero no menos osteolíticos. Otros -- casos atípicos no forman fístulas. (1, 2, 3)

- c) **Sintomatología:** En un inicio el padecimiento duele - poco o nada. Existe prurito sobre todo cuando las -- fístulas se abren. El dolor se presenta en casos --- crónicos con lesiones osteolíticas o por infecciones-bacterianas agregadas. El dolor puede acompañarse de fiebre y adenopatías. (1)

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

Osteomielitis, tuberculosis colicuvativa, esporotri--
cosis micetomatoide, coccidioidomicosis, actinomicosis,
hidrosoadenitis, furunculosis, cicatrices queloides.
(1, 2, 3)

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

a) Examen directo: El exudado seropurulento se coloca -- entre porta y cubreobjetos, con una gota de lugol, -- solución salina o KOH al 10%. La observación de los granos es suficiente para establecer el diagnóstico y tener una orientación en cuanto a la etiología, en base al tamaño, color, forma y propiedades especiales -- de cada grano. (1, 3)

--Granos de tipo Nocardia: Todos son iguales no im-- portando la especie (N. brasiliensis, N. asteroides y N. otitis-caviarum). Son granos constituidos por filamentos microsifonados, de aproximadamente 50-100 micras de tamaño, de color blanco o blanco amari-- llento, multilobulados con aspecto "arriñonado" o -- de "feto", que pueden presentar clavas en la perife-- ría que miden en ocasiones más de la mitad del pro-- pio grano. (1, 3)

--Grano de A. madurae: Está constituido por filamen-- tos microsifonados, macroscópico (es el de mayor -- tamaño), que mide entre 1 y 5 mm de tamaño, de co-- lor blanco amarillento, de forma redonda irregular-- y de consistencia blanda. Al microscopio se observa lobulado y en algunas partes de su periferia tiene -- pseudoclavas o flecos. (1, 3)

--Grano de A. pelletieri: Se encuentra constituido - por filamentos microsifonados, mide entre 200-300 - micras de tamaño, tiene un color rojo característico, tiene forma redonda y agrupada. (1, 3)

--Grano de S. somaliensis: Se encuentra constituido - por filamentos microsifonados, mide entre 0.5 y 1 - mm de tamaño, de color blanco-grisáceo, de forma -- redonda y consistencia sumamente dura, ya que con-- tiene un cemento que aglutina al micelio. (1, 3)

- b) Cultivos: Se realizan en medios tales como el Sabouraud o extracto de levadura agar; también puede em-- plearse Sabouraud más actidione. Para el primo-aisla-- miento de algunas especies como A. madurae y S. soma-- liensis debe emplearse el medio de Lowenstein-Jensen. Para la mayoría de los actinomicetos, el tiempo prome-- dio de crecimiento es entre 8-15 días a temperatura - ambiente. Algunas cepas de A. madurae pueden llegar-- a desarrollar hasta en dos meses. (1)
- c) Biopsias: Tienen gran importancia, sobre todo cuando NO se encuentran los granos al examen directo. La -- imagen histopatológica es prácticamente igual no im-- portando el agente causal. Los granos por lo regular

se presentan en el centro de los microabscesos. La importancia de la biopsia está en determinar las características tintoriales (hematoxilina y eosina) y forma de los granos, porque nos ayudan a la identificación del agente causal. (1, 2, 3)

- d) Pruebas inmunológicas: Múltiples pruebas serológicas, intradermorreacciones carecen de valor diagnóstico, ya que se requiere de un gran número de antígenos; -- además también se presentan cruces inmunológicos. -- (1, 2, 4)

- e) Rayos X: Son indispensables para indicar el grado de afección ósea. (3)

- f) Inoculación en animales: Es una prueba complementaria para investigar la virulencia de los microorganismos. Se realiza en el cojinete plantar del ratón, -- inoculando una suspensión de la cepa. Después de presentarse la inflamación, se sacrifica al animal y se observan los granos provenientes de la pata y peritoneo u otros órganos. Se observan granos más pequeños. (1, 3)

PRONOSTICO

Los micetomas con mejor pronóstico son los causados por N. brasiliensis, que se presentan en el pie, sin lesión perióstica ni ataque al hueso. Los micetomas con mal pronóstico son los causados por A. maduræ y S. somaliensis, que se encuentran localizados en el dorso (espalda)-o cráneo y que provoquen osteolisis o comprometan a otros órganos como pulmones, vísceras, cerebro, etc. (1, 3)

TRATAMIENTO

El esquema más empleado sobre todo para N. brasiliensis, es a base de diaminodifenilsulfona (DDS), a una dosis de 400/80 a 800/160 mg por día. El tratamiento deberá prolongarse por años y dependiendo de la respuesta que tenga el paciente, se puede ir disminuyendo la dosis. Deberá existir un control clínico y de laboratorio, ya que este tipo de fármacos generan algunos problemas hematológicos. (5, 6)

En el caso de micetomas que no respondan a las sulfas, puede emplearse como tratamiento estreptomycin (1g/día) más sulfametoxazol-trimetoprim (400/80 mg día). (1, 6)

Un nuevo esquema terapéutico es a base de amikacina- (aminoglucósido), a una dosis de 500 mg cada 12 horas durante períodos de 21 días, con descansos de igual tiempo. Los resultados clínicos son bastante buenos, pero este -- fármaco presenta el inconveniente de ser caro y tóxico; - por lo tanto, no puede administrarse a todos los pacien-- tes, ni puede utilizarse por tiempo prolongado. Se con-- sidera que puede administrarse como terapia inicial, so-- bre todo en micetomas con localizaciones en tórax, abdo-- men y cráneo. Se recomienda una vez completado los dos o tres ciclos de la terapia, continuar con las sulfonamidas (DDS) por tiempo prolongado para evitar recidivas. (1, 6, 7, 8, 9, 10, 11)

Igualmente se ha empleado fosfomicina a una dosis de 500 mg/día combinada con ketoconazol a 200 mg/día, obte-- niéndose en ocasiones buenos resultados; sin embargo, la fosfomicina tiene el inconveniente de producir algunos -- efectos colaterales. (5)

La cirugía está contraindicada en los actinomiceto-- mas; por el contrario, puede provocar diseminación linfá-- tica y/o hematógica de muy mal pronóstico. (1, 2)

PROFILAXIS

Las medidas profilácticas más recomendables, consisten en hacer conciencia de este padecimiento en los grupos más expuestos (campesinos, obreros, etc.), así como insistir en el uso cotidiano de calzado cerrado. (1, 2, 3)

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DEL ACTINOMICETOMAGénero Nocardia:

- a) Nocardia brasiliensis. Es un actinomiceto aerobio, -
causante del 85% de los micetomas en México.

Cultivo: Crece en agar Sabouraud o agar extracto de levadura, es inhibido por el cloramfenicol (Micosel).

Colonia: Se desarrolla entre 8-10 días a temperatura ambiente. Circunscrita, seca, de consistencia dura, - color blanco o blanco amarillento que adquiere una -- tonalidad naranja al ser resebrada, forma acuminada y surcada con aspecto de "palomita de Maíz". En ocasiones presenta un ligero pigmento beige-café que difunde a través del medio. Despide un olor característico a "tierra mojada".

Morfología: Es un microorganismo grampositivo y es - parcial ácido alcohol resistente (AAR), microsifonado, tabicado, y se fragmenta en formas cocoides y bacilares. (1, 3)

- b) Nocardia asteroides. Es un actinomiceto aerobio, ---
causante de la mayor parte de las nocardiosis y en -- menor proporción de micetoma.

Cultivo: Crece en agar Sabouraud y agar extracto de levadura, es inhibido por el cloramfenicol.

Colonia: Se desarrolla entre 10-12 días a temperatura ambiente. Circunscrita, seca, de color naranja -- con tonalidades blancas en ocasiones, de forma acuminada y surcada, consistencia suave; no presenta pigmento generalmente y también despidе olor a "tierra mojada".

Morfología: Es un microorganismo grampositivo y es - parcial AAR, microsifonado, tabicado, con formas co-- coides y bacilares. Es indistinguible del resto del género Nocardia. (1, 3)

- c) Nocardia otitis-caviarum (N. caviae). Es un actinomiceto aerobio que produce sólo un 0.1% de los casos de micetoma.

Cultivo: Crece en agar Sabouraud y agar extracto de levadura; es inhibido por el cloramfenicol.

Colonia: Se desarrolla entre 8-10 días a temperatura ambiente. Circunscrita, seca, de consistencia dura, - color blanco, plana, de aspecto "yesoso"; no presenta pigmento y tiene olor característico a humedad o "tierra mojada".

Morfología: La misma que N. brasiliensis y N. asteroides.

Género Actinomadurae:

- a) Actinomadurae madurae. Es un actinomiceto aerobio, - considerado como el segundo agente etiológico del micetoma en México (9-10%).
- Cultivo: En caso de primo-aislamiento se debe sembrar en medios ricos como BHI agar y Lowenstein-Jensen e incubar a 37°C.
- Colonia: Se desarrolla en 20-40 días. En cultivo -- posterior (resiembra), se adapta al agar Sabouraud a temperatura ambiente. La colonia es pequeña, circunscrita, de color blanco amarillento (en raras ocasiones toma una coloración rosa), húmeda, de consistencia -- suave, ligeramente acuminada y cerebriforme, no produce pigmento.
- Morfología: Es un microorganismo grampositivo, no se considera AAR, presenta gran cantidad de filamentos - microsifonados, septados, que en ocasiones se fragmentan en formas bacilares y cocoides. (1, 3)
- b) Actinomadurae pelletieri. Es un actinomiceto aerobio, que se presenta en muy raras ocasiones como agente -- causal del micetoma en México (0.5%).
- Cultivo: Crece en agar Sabouraud y agar extracto de levadura.
- Colonia: Desarrolla entre 15-20 días a 37°C. Cir---

cunscrita, de color rojo, húmeda, de consistencia ---
blanda y generalmente acuminada y cerebriforme.

Morfología: Es un microorganismo grampositivo, no es
AAR, micelio microsifonado, septado que presenta po--
cas formas cocoides y bacilares. (1, 3)

Género Streptomyces:

a) Streptomyces somaliensis. Es un actinomiceto aerobio
que raramente se ha aislado en México (0.8%).

Cultivo: Para primo-aislamiento se debe sembrar en -
medios ricos como BHI, agar extracto de levadura y --
Lowenstein-Jensen a 37°C.

Colonia: Desarrolla entre 20-30 días. Es pequeña, -
circunscrita, seca, de consistencia dura, de color --
blanco-amarillento y en ocasiones toma tonalidades --
azulosas.

Morfología: Es un microorganismo grampositivo, no es
AAR, microsifonado, septado y ramificado, en ocasio--
nes en forma de zarcillos; posee gran cantidad de --
formas cocoides dispuestas en cadena con un diámetro--
superior al de los filamentos. (1, 3)

Tabla 1. Características Bioquímicas del género Nocardia.
(Según Gordon y Mihm 1962 y modificada por Mahgoub)

<u>Prueba Bioquímica</u>	<u>N. asteroides</u>	<u>N. brasiliensis</u>	<u>N. otitis-caviarum</u> <u>(N. caviae)</u>
Hidrólisis de caseína	-	+	-
Licuefacción de gelatina	-	+	-
Tirosina	-	+	-
Xantina	-	-	+
Hipoxantina	-	+	+
Urea	+	+	+
Galactosa	±	+	-
Inositol	-	+	+
Manitol	-	+	+
Ramnosa	±	-	-
Supervivencia a 50°C 8 hrs.	±	-	+

Tabla 2. Características Bioquímicas del género Actinomadurae y Streptomyces. (Según Gordon y Mihm 1962 y modificada por Mahgoub)

<u>Prueba Bioquímica</u>	<u>A. madurae</u>	<u>A. pelletieri</u>	<u>S. somaliensis</u>
Hidrólisis de caseína	+	+	+
Licuefacción de gelatina	+	+	+
Urea	-	-	-
Tirosina	+	+	+
Xantina	-	-	-
Hípoxantina	+	+	-
Nitritos a nitratos	+	+	-
Adonitol	+	-	-
Arabinosa	+	-	-
Galactosa	+	+	-
Manitol	+	+	-
Manosa	+	-	-
Xilosa	+	-	-

II. CIPROFLOXACINA

La ciprofloxacina es un derivado de las quinolonas, las cuales tienen un mecanismo de acción muy particular, no parecidos a los antibióticos clásicos; éstas inhiben la acción de la girasa, dando como consecuencia alteraciones a nivel del DNA. No se aíslan de hongos ni bacterias, sino que se obtienen por síntesis química en el laboratorio. (12, 13)

El primer derivado sintetizado fue el ácido nalidixico (años 70's) y se considera como el precursor de la ciprofloxacina; su descubrimiento fue un poco curioso, se creó a partir del proceso de purificación de la cloroquina, dando como resultado la 7-cloroquina, la que se comprobó tiene una potente acción bactericida. A partir de este hecho, se empezaron a hacer modificaciones sobre la molécula base (quinolona), con nuevos radicales, lo que dio origen a nuevos productos con mayor actividad, en especial contra microorganismos grampositivos y gramnegativos. (12)

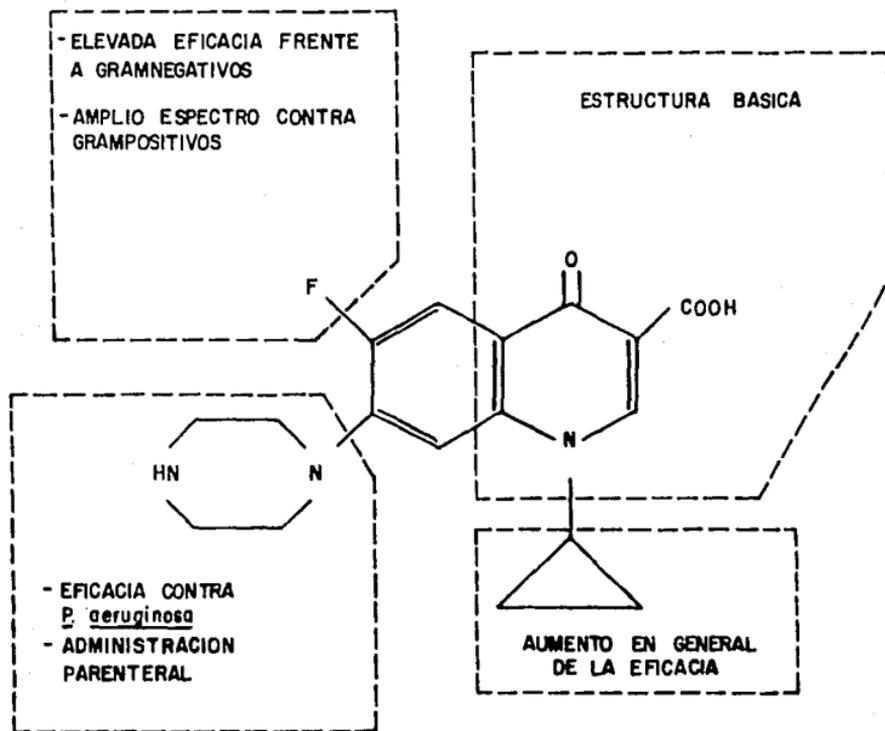
QUIMICA

La ciprofloxacina (ácido 1-ciclo propil-6-fluoro-1, 4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperacil)-3 quinolín carbónico),-

de fórmula estructural $C_{14}H_{18}FN_3O_3$, se encuentra disponible para su utilización oral en forma de clorhidrato de ciprofloxacina y para su aplicación parenteral al 1% en 0.1% de lactato. La ciprofloxacina pertenece al grupo de las llamadas 6-fluoroquinolonas, caracterizadas por su gran potencia y espectro antimicrobiano. (12, 13, 14).

El título sérico bactericida de la ciprofloxacina es más elevado que el de otros derivados quinolónicos, como son la norfloxacina y ofloxacina, a pesar de que su concentración sérica es mucho más baja. (12)

La actividad de la ciprofloxacina es más elevada en medio neutro o alcalino; en cambio, en medio ácido, la concentración mínima inhibitoria (CMI) aumenta en forma clara. En la orina disminuye la actividad antibacteriana de dicha sustancia, debido a interacciones del principio activo con cationes como el Mg^{2+} , impidiendo así el primer paso a la penetración celular: La unión a iones divalentes que se encuentran en la pared celular. Debido a las altas concentraciones de este fármaco que se pueden encontrar en la orina, este efecto resulta irrelevante. (12, 14)



CIPROFLOXACINA : RELACION ESTRUCTURA / ACCION (12, 15)

ESPECTRO ANTIBACTERIANO

Estudios realizados con la ciprofloxacina (CIP) a nivel mundial, han comprobado la gran actividad "in vitro" y amplio espectro antibacteriano. (12)

La ciprofloxacina es nuevo "antibiótico sintético", que ha demostrado ser muy eficaz contra bacterias gramnegativas incluyendo aquéllas multirresistentes. Entre éstas tenemos: E. coli, Citrobacter sp., Enterobacter sp., Klebsiella sp., Serratia, Salmonella, Shigella, Proteus, Providencia, Acinetobacter, Campylobacter, Yersinia, Vibri, Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus influenzae. que poseen una CMI que oscila entre 0.001-8mg/l. Algunos Enterococos, Pseudomonas sp., Bacteroides fragilis y Bacteroides sp., muestran una disminución en la sensibilidad a la CIP. (CMI de hasta 32 mg/l). Entre otros microorganismos sensibles tenemos a: N. meningitidis y H. ducreyi. (16, 17, 18)

El espectro de acción abarca también a bacterias grampositivas como son: S. aureus, S. epidermidis y Streptococcus pyogenes (A), que fueron inhibidos a 0.3-0.7mg/l. (12, 17)

Igualmente, la ciprofloxacina posee gran actividad -

contra microorganismos intracelulares tales como: Bruce-
lla sp., Legionella sp., Chlamydia sp., Listeria sp., --
Mycobacterium sp., que son inhibidos a 0.1-2 mg/l. (2).

Esta quinolona es marcadamente eficaz desde el punto de -
vista bactericida, incluso ante microorganismos que se en-
cuentran en una fase de crecimiento estacionario, en com-
paración a otros antibióticos como los beta-lactámicos o
aminoglucósidos, que sólo poseen acción bactericida duran-
te la fase de crecimiento activo. (18, 19, 20, 21, 22, -
23, 24)

Es importante citar que la ciprofloxacina NO inhibe-
el crecimiento de hongos y protozoarios. (12)

MECANISMO DE ACCION

En 1974, Worcel (25) estudió cómo se plegaba el cromosoma en la E. coli y encontró que contenía zonas organizadas especialmente, las que denominó enrollamientos o dominios. Cada uno de éstos, está unido a un núcleo de RNA (Figura 1). La necesidad de espacio obliga a cada uno a irse condensando; de ahí el término de "dominio de superenrollamiento" (Figura 2), cuyas espirales se enrollan en sentido contrario a las helocoides del DNA (superenrollamiento "negativo"). (15, 26)

Para llevarse a cabo dicho efecto, se abre pasajera-mente la doble hélice del cromosoma, dominio a dominio, - cortándose las dos hebras en forma escalonada. Cuando se ha completado el superenrollamiento, los extremos de los dominios se unen de nuevo. (26)

En 1976, Gellert y colaboradores (27), identificaron la enzima que cortaba la doble hélice del DNA cromosómico, inductora de superenrollamientos negativos y que finalmente volvía a cerrar la hélice de DNA. La denominaron DNA-girasa o E. coli topoisomerasa II.

La DNA girasa consta de cuatro subunidades, dos alfa-monómeros (105,000 daltons) y dos beta-monómeros (95,000

daltons). Las subunidades alfa son probablemente responsables de la apertura del DNA en los dominios aislados -- (cortes escalonados) y las subunidades beta de la inducción de los superenrollamientos negativos de los dominios. La energía necesaria para dicho efecto, proviene de la -- disociación del ATP. (28)

La acción antibacteriana de los inhibidores de la -- girasa, radica en impedir el cierre de estos puntos de -- rotura, debido a la acción de las subunidades alfa. Los extremos expuestos del DNA poseen la función de inducir -- la producción de exonucleasas, que fragmentan el DNA cromosómico conduciendo así a la muerte bacteriana. (25, -- 28)

Posteriormente, pudo demostrarse que los cortes producidos por las subunidades alfa, aparecen escalonados cada cuatro pares de bases y que el extremo 5' sobresale de la cadena. (Figura 3). Los inhibidores de la girasa, -- enlazan precisamente este extremo con la girasa mediante una unión o puente covalente anormal. (25, 28)

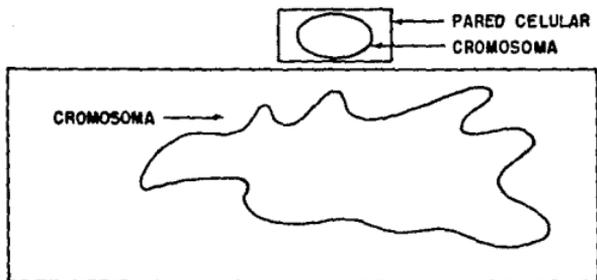


FIGURA 1

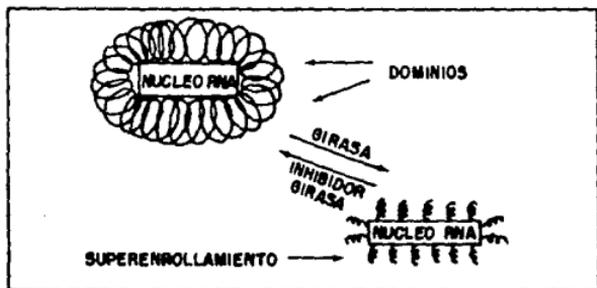


FIGURA 2

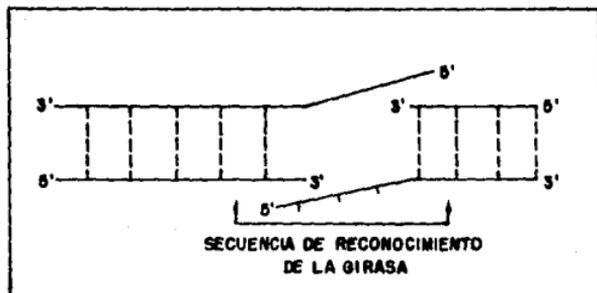


FIGURA 3

MODELO DE ESTRUCTURA BACTERIANA Y MECANISMO DE ACCION DE LOS INHIBIDORES DE LA GIRASA (25)

ACTIVIDAD BACTERICIDA

Todos los inhibidores de la girasa poseen una acción bactericida, observándose la propiedad de presentar a diferentes concentraciones de los mismos, el llamado "efecto bifásico". Esto es, al aumentar poco a poco la concentración de ciprofloxacina, se observa un efecto bactericida progresivo que alcanza un máximo (CBM=concentración bactericida máxima) factible de presentarse en suero bajo -- condiciones terapéuticas. Esta fase se debe a una inhibición creciente de la síntesis del DNA, lo que hace que se produzca el efecto bactericida. En cambio, si se sobrepasa dicha concentración máxima, aparece una segunda fase - en la cual disminuye el poder bactericida de la sustancia debido a una inhibición de la síntesis de RNA. (25, 28)

La capacidad bactericida de la ciprofloxacina es superior a muchas otras quinolonas, como por ejemplo a la - del ácido nalidíxico: El efecto bactericida máximo de la CIP para E. coli se logra a una concentración de 0.15 mg/l (el 99.96% de las bacterias mueren en las tres primeras - horas); en cambio, el ácido nalidíxico a su máxima concentración bactericida de 90 mg/l sólo logró la muerte del - 99% o menos de las bacterias. (25)

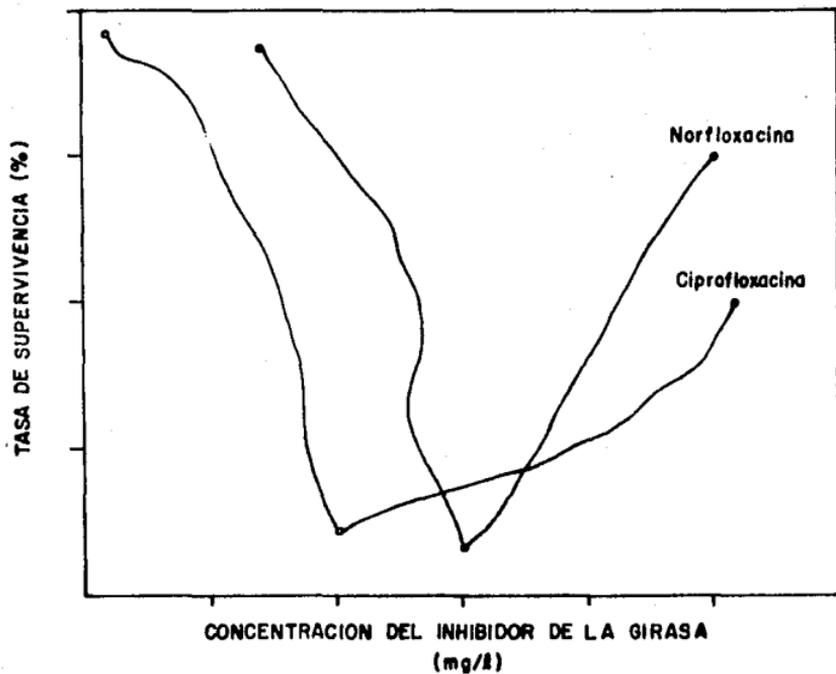
La tasa de supervivencia con la concentración máxima de ácido nalidíxico es del 10% aproximadamente y la de la

CIP es del 1%. Esta diferencia se ha podido explicar, ya que el efecto bactericida de la CIP es menos sensible a la acción antagonista de la inhibición de la síntesis de RNA. Para comprobar esta hipótesis, se estudió la acción de varios inhibidores de la girasa, frente a diversos microorganismos en medios de cultivo que poseían las concentraciones bactericidas máximas correspondientes, además de rifampicina (170 mg/l) como inhibidor de la síntesis de RNA. En el caso del ácido nalidíxico, norfloxacin y otros, el efecto bactericida se transformó en bacteriostático; en cambio, en el caso de la CIP, lo único que se produjo fue retardo parcial de su efecto bactericida sin alterarse la tasa de mortalidad. (25, 28)

Por lo tanto, existen dos mecanismos de acción bactericida: El mecanismo A (común a todos los inhibidores de la girasa) que puede antagonizarse con rifampicina, y el mecanismo B (existente en la ciprofloxacina), que es resistente a la acción antagónica de la rifampicina. De esta forma, el efecto bactericida de la CIP en particular, es más rápido que el de otros inhibidores de la girasa que sólo poseen el mecanismo A. (28)

Posee una rápida acción bactericida y un efecto estructural subinhibitorio de la octava parte del valor de la CMI, con una acción post-antibiótica de 4-6 horas. (13, 14)

Conociendo el efecto bactericida de los inhibidores de la girasa, no se recomienda su empleo en forma conjunta con sustancias que inhiban la síntesis del RNA bacteriano, ya que pueden abolir al menos parcialmente la actividad antimicrobiana de los mismos. (25, 28)



EFFECTO BIFASICO DE LA CIPROFLOXACINA SOBRE *E. coli* KL 16, A CONCENTRACIONES CRECIENTES DEL INHIBIDOR DE LA GRASA (25)

RESISTENCIA BACTERIANA

En el caso de bacterias tratadas con otros antibióticos, el mecanismo de resistencia clínica radica habitualmente en la existencia de plásmidos transmisores de dicha resistencia. Afortunadamente, los inhibidores de la girasa no están sujetos a una resistencia antibiótica tal.
(29)

La única forma en que un microorganismo puede ser -- resistente a dichas quinolonas, es a través de mutaciones a nivel de las subunidades alfa y beta o bien mutaciones-- que provoquen un aumento de la impermeabilidad en la pared celular, conduciendo a un incremento de la CMI y CBM.
(28, 30)

Resulta improbable una destrucción del inhibidor de la girasa por la enzima transmitida por un plásmido, debido a que no son productos naturales (no provienen por -- ejemplo de hongos), sino que más bien se obtienen por procedimientos puramente sintéticos.

El último mecanismo es la existencia de una enzima -- resistente al antibiótico. Si una bacteria tuviese un -- plásmido que transfiriera la capacidad de sintetizar una enzima tal, entonces también produciría la correspondiente

enzima de sensibilidad al antibiótico. Esto se trató de comprobar experimentalmente obteniéndose resultados negativos. (31), con lo que la única posibilidad de adquirir la resistencia es por medio de una mutación.

Los niveles de mutación en condiciones clínicas son muy poco frecuentes (menores del 10^{-9}), ya que éstas son fáciles de producir en el laboratorio y no son responsables por lo general de las resistencias clínicas a los antibióticos. La obtención de mutaciones es un hecho bastante remoto; por lo tanto, el que se generen "in vivo", también se considera poco frecuente. (14, 18, 28)

Se ha visto que al comparar los aumentos de la resistencia de mutantes frente a varios inhibidores de la girasa, la ciprofloxacina se distingue por mostrar comparativamente un elevada actividad, es decir, presenta los aumentos más bajos. (25)

Otra ventaja de la ciprofloxacina es que no muestra resistencia cruzada o antagonismo con los beta-lactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas e inhibidores del ácido fólico. Su acción sólo es ligeramente disminuída por el cloramfenicol y la rifampicina. (13, 25, 28, 32, 33)

FARMACOCINETICA

Las quinolonas fluoradas se absorben rápidamente -- por vía oral. La farmacocinética de la ciprofloxacina, fue estudiada por Bergan en 1987 (34) en 12 pacientes voluntarios a quienes se les administraron dosis de: 100, - 250, 500 y 1,000 mg por vía oral, así como 100 mg por vía intravenosa. Las concentraciones séricas máximas aumentaron en proporción a la dosis administrada como puede verse en la gráfica, presentándose generalmente entre 1 y 2 horas después.

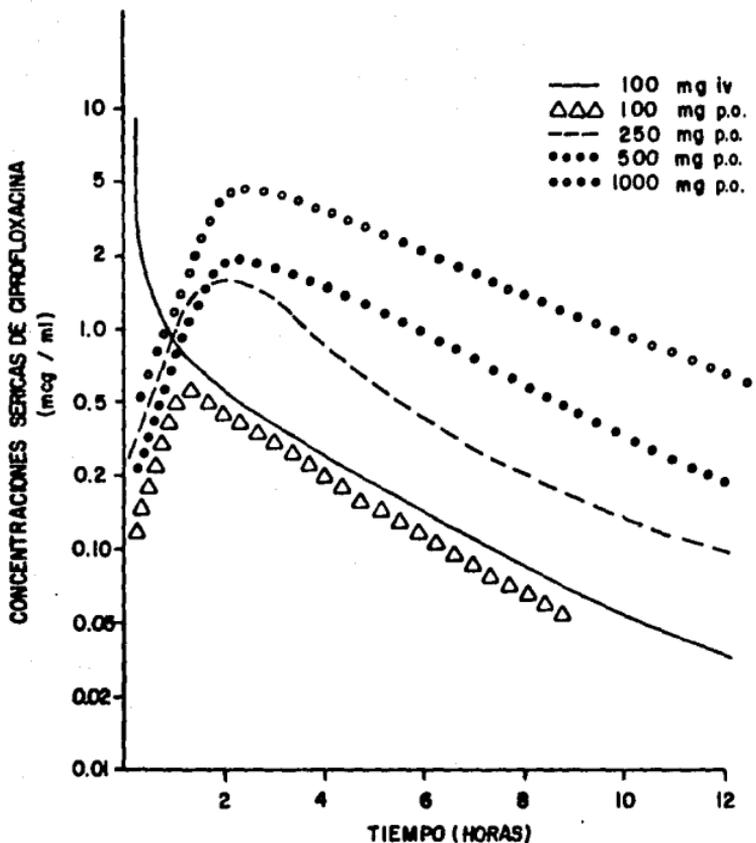
La ciprofloxacina tiene una biodisponibilidad del -- 85%, y un grado de proteoconjugación del 35%. La vida -- media sérica es de 3-4 horas (oral) en pacientes normales; mientras que en pacientes con insuficiencia renal aumenta de 5-10 horas. Por otro lado, la vida media sérica tras una dosis intravenosa es de 2.9 horas. Esta quinolona -- posee un volumen de distribución de 2.76 litros/kg, lo -- que sugiere una excelente distribución a todos los tejidos sin embargo, todo esto es muy variable en cada paciente. (35 - 46)

Los niveles séricos se mantienen por arriba de 0.25 - mcg/ml al menos por un período de 10 hrs. después de la administración de una dosis oral de 500 mg y por un período-

de 18-20 horas tras la administración de 1000 mg de ciprofloxacin. (41-50)

La ingestión de alimentos prolonga la absorción, ya que los niveles séricos aparecen después de las 2 horas. (51, 52)

De igual manera, la ingestión de antiácidos como el hidróxido de aluminio y magnesio, reduce la absorción de la ciprofloxacin por formar un compuesto quelante. (51, 52)



CONCENTRACIONES SERICAS MEDIAS DE CIPROFLOXACINA
 TRAS DOSIS UNICAS DE 100, 250, 500, 1000 mg Y 100 mg
 i.v. (12 PROBANDOS) SEGUN BERGAN (34)

ELIMINACION

La ciprofloxacina se elimina principalmente por filtración glomerular y secreción tubular activa en un 60-70%, por excreción biliar en un porcentaje menor al 1%, ya que se han encontrado concentraciones de 0.8-200 mcg/ml en -- bilis. (34)

Se han detectado cuatro metabolitos tanto en orina -- como en heces, los cuales poseen una acción menor al 50% en comparación a la ciprofloxacina, y sólo representan el 12% de la excreción total del fármaco. (13, 37, 38, 39, 43, 50)

Principales metabolitos de la CIP	Vía de eliminación
Desetilen-ciprofloxacina (M ₁)	Orina (1.4%)--Heces (0.5%)
Sulfo-ciprofloxacina (M ₂)	Orina (3.7%)--Heces (5.5%)
Oxo-ciprofloxacina (M ₃)	Orina (6.2%)--Heces (1.1%)
Formil-ciprofloxacina (M ₄)	Orina (1%)

No existe una alteración significativa en pacientes-- con disfunción hepática. Recientemente se ha demostrado que la ciprofloxacina y sus metabolitos pueden eliminarse

también por transporte "transintestinal"; es decir, que - por medio de un mecanismo de transporte a través de la mucosa intestinal llegan a las heces. Esta vía de eliminación puede constituir más del 15% de la eliminación del fármaco en pacientes con disfunción renal. (39, 43)

TOXICIDAD

Respecto a la toxicidad, se han realizado varios estudios en ratas y monos para observar los efectos de dicho fármaco, encontrándose procesos inflamatorios de la pared tubular y precipitación de complejos de ciprofloxacina y/o sus metabolitos, magnesio y proteínas en el lumen de los túbulos renales. La reacción inflamatoria no es el resultado de la intoxicación primaria sino que es la reacción-secundaria causada por la precipitación de dichas sustancias. Esta precipitación es más fácil que ocurra en estos animales (condiciones alcalinas en las cuales la CIP no es soluble), que en el hombre que tiene una orina ácida. (53, 54). Schacht y colaboradores (54), informan que en un estudio de 1556 casos con pacientes tratados a diferentes dosis de ciprofloxacina, NO muestran evidencias de nefrotoxicidad.

A través de estudios en animales y pacientes, se ha-

demostrado que la ciprofloxacina NO produce efectos catarogénicos. (54, 55)

Hasta la fecha, la mayor parte de los pacientes tratados con CIP ha sido gente adulta; existe poca evidencia clínica que confirme la existencia de alteraciones articulares en pacientes jóvenes. Sin embargo, debido a resultados obtenidos en estudios con animales, este fármaco no se recomienda en niños y mujeres embarazadas. (53)

GENOTOXICIDAD (POTENCIAL MUTAGENICO)

Se valoró la genotoxicidad "in vitro" de la ciprofloxacina en un cultivo primario de hepatocitos, obteniéndose resultados positivos. Sin embargo, la administración de 30 mg/kg de CIP durante 4-24 horas o bien de 190 mg/kg -- durante 4 horas, no causó genotoxicidad. Este hecho puede deberse a factores tales como absorción y distribución en el organismo. Es importante recordar que los efectos producidos "in vitro" por tiempo prolongado, no siempre -- ocurren "in vivo". Por lo tanto, las pruebas "in vitro" no siempre son suficientes para establecer si un compuesto es genotóxico. (54, 56, 57)

M A T E R I A L :

Aguja de disección
Algodón
Asa bacteriológica
Asa micológica
Cajas de Petri desechables de 9 cm de -
diámetro
Cinta adhesiva
Cubreobjetos
Etiquetas
Frascos viales
Gradillas metálicas
Marcador
Matraces Erlenmeyer de 500 ml.
Matraces aforados de 100 ml.
Mechero
Papel aluminio
Pinzas millipore
Pipetas graduadas de 10, 5 y 1 ml.
Portaobjetos
Probeta de 250 ml.
Tela de asbesto
Termómetro
Tijeras
Tubos de ensayo de 13 X 100, 12 X 75 y
16 X 150
Tubos de 16 X 150 con tapón de rosca
Vasos de precipitados de 250 ml.

EQUIPO :

Autoclave
Balanza analítica y granataria
Estufa
Equipo millipore con membrana para filtración
Horno
Incubadora
Mortero
Microscopio óptico
Refrigerador

REACTIVOS :

Agua destilada (H₂O)
Lugol

MEDIOS DE CULTIVO :

1) Infusión cerebro corazón (BHI).

Fórmula aproximada en gramos por litro de H₂O destilada:

Infusión de cerebro de tenera. . .	200.0
Infusión de corazón de res.	250.0
Peptona de geltaína.	10.0
Cloruro de sodio.	5.0
Fosfato disódico.	2.5
Dextrosa.	2.0
pH final:	7.4

Disolver 37 gramos de material deshidratado en 1 litro de agua destilada. Dejar hervir un minuto hasta completa disolución. Distribuir en tubos y esterilizar en autoclave a 121°C. (15 libras de presión de vapor) durante 15'-20'.

Para obtener mejores resultados, el medio debe usarse el mismo día de su preparación, o debe ser hervido o calentado durante unos cuantos minutos. Después se debe enfriar antes de usarlo. Debe conservarse entre 15-30 °C.

2) Agar Sabouraud.

Composición en gramos por litro:

Peptona especial	10.0
D(+)-glucosa	40.0
Agar-agar	15.0

Disolver 65 gramos en 1 litro de H₂O destilada o completamente desmineralizada. Hervir en olla de presión o Baño María hasta completa disolución. Esterilizar en autoclave 15' a 121°C una vez distribuido en tubos. Enfriar inmediatamente. Deberá evitarse la relicuefacción.

A N T I B I O T I C O S :

Fosfomicina (Solución inyectable)
 Amikacina (Solución inyectable)
 Estreptomycin (Solución inyectable)
 Trimetoprim-sulfametoxazol (Solución inyectable)
 Diaminodifenilsulfona (DDS) (Comprimidos)
 Ciprofloxacina (Clorhidrato de ciprofloxacina con un 99% de pureza).

J U S T I F I C A C I O N

La aparición de nuevas cepas resistentes, aunada a los frecuentes efectos colaterales producidos por los fármacos, ha despertado el interés por desarrollar nuevas terapias para el micetoma.

Considerando que las micobacterias son sumamente sensibles a la ciprofloxacina, ya que morfológica y fisiológicamente son similares a los actinomicetos productores de micetoma, pensamos que esta quinolona podría tener acción frente a cepas de Nocardia, Actinomadurae y Streptomyces.

Una vez comprobada la actividad "in vitro" de la ciprofloxacina, se comparó contra los fármacos más empleados en la terapia de este padecimiento para valorar sus posibles ventajas y desventajas.

M E T O D O L O G I A :

a) Toma de muestra:

Se seleccionan las fístulas más activas y que el paciente refiere con prurito. Se realiza la asepsia de la piel y posteriormente con ayuda de una aguja de disección estéril, se retira la costra o se hace una pequeña incisión para drenar dicha fístula. El material seropurulento que contiene a los "granos" o formas parasitarias, se recoge con el asa micológica y se coloca sobre un portaobjetos con un gota de lugol. Se calienta ligeramente y se hace la observación al microscopio (forma, tamaño, color, consistencia, presencia o ausencia de clavos, etc.)

b) Cultivo de los granos:

Se recolecta el material seropurulento que drena de dicha fístula activa con ayuda de una asa micológica, y se procede a la siembra en medio de agar Sabouraud o BHI agar. Se incuba a 35°C por 8-10 días. Al cabo de dicho tiempo, se hace la observación macroscópica de las colonias.

c) Adaptación del microorganismo a medio líquido:

Se recolectaron 50 cepas diferentes de actinomicetos aislados de pacientes con micetoma. Se toman 1-2 asadas de dichas colonias y se resuspenden en BHI - caldo, con el fin de obtener un crecimiento aún más - rápido. El inóculo deberá de permanecer sobre la superficie del líquido, ya que el microorganismo es aerobio; para esto se deshace el inóculo lo más finamente posible sobre las paredes del tubo, permitiendo -- que el líquido lo arrastre. Los tubos se incuban a - 33-35°C por 5-6 días o hasta observar abundante desarrollo sobre la superficie.

d) Estudio de la acción "in vitro" de la ciprofloxacina frente a actinomicetos:

Para realizar dicho estudio, se procede a elegir un rango de concentraciones basado en los niveles plasmáticos (mínimo y máximo). Así tenemos que se prepararon las siguientes diluciones: 0.5, 1, 3, 5, 7, 8, 9, 11 y 16 mcg/ml. Estas concentraciones se preparan a partir de un volumen de concentración conocida de - dicho fármaco, y a partir de éste se hacen diluciones seriadas en tal forma, que variando la cantidad de me-

dio líquido y solución del fármaco se obtenga la concentración deseada. Se pueden manejar simultáneamente 5 concentraciones diferentes, un tubo control de la cepa, y un control del fármaco. Se colocan 2 asadas (bacteriológicas) de cada cepa que se ha hecho -- crecer previamente en BHI caldo, procurando siempre depositar un inóculo lo más uniforme posible en cada tubo. El crecimiento tan característico de estos actinomicetos sobre la superficie del líquido, hace difícil la estandarización del inóculo. Los tubos se incuban a 35°C durante 5-6 días para obtener resultados.

e) Estudio de la acción "in vitro" de otros fármacos:

De la misma forma que se procedió en el caso de la ciprofloxacina, se lleva a cabo con:

Amikacina: 5, 10, 20, 40 y 60 mcg/ml.

Fosfomicina: 10, 20, 30, 40 200 mcg/ml.

Estreptomycin: 80, 100, 120 200 mcg/ml.

Diaminodifenilsulfona: 15, 30, 45 165 mcg/ml.

Trimetoprim-sulfametoxazol: 3, 5, 7 13 mcg/ml.

f) Estudio de la acción "in vitro" de la CIP y otros fármacos empleando discos comerciales:

Existen cepas que no se adaptan fácilmente a un medio líquido, como es el caso de A. pelletieri, S. somaliensis y A. madurae, cuya sensibilidad a los fármacos en estudio se analizó por esta técnica.

Se toman 1-2 asadas de la colonia de dichos actinomicetos y se resuspenden vigorosamente en medio líquido (BHI). Con un hisopo se extiende una película uniforme de cada cepa en cajas de Petri preparadas previamente con BHI agar. Con una pinza de ceja estéril, se colocan los respectivos discos comerciales impregnados con el antibiótico a una concentración determinada; se refrigeran las cajas durante 15' y posteriormente se incuban a 35°C durante 4-5 días. Los discos comerciales que se emplean poseen las siguientes concentraciones:

Amikacina:	30 mcg/ml
Trimetoprim-sulfametoxazol:	25 mcg/ml
Estreptomicina:	10 mcg/ml
Ciprofloxacina:	7 mcg/ml

En cada caso, se mide el halo de inhibición producido por el antibiótico.

R E S U L T A D O S

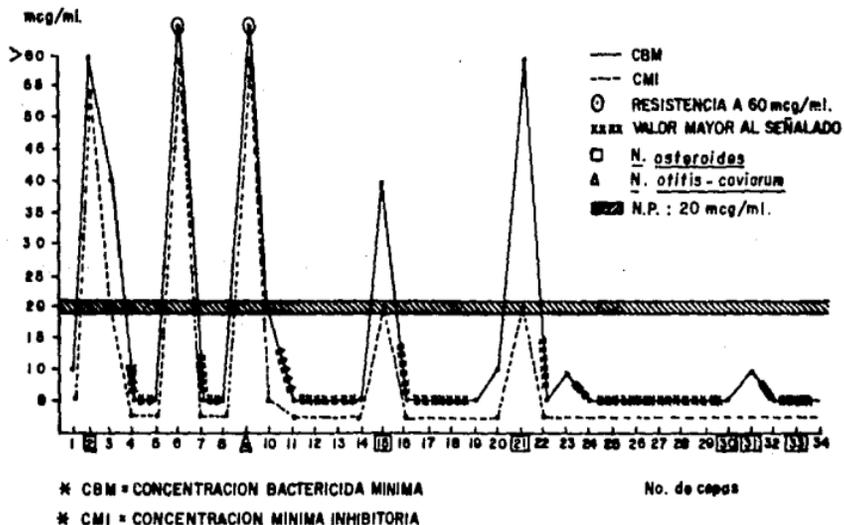
Durante el presente estudio, se manejaron los siguientes criterios:

- a) Concentración mínima inhibitoria (CMI): Es la mínima concentración de ciprofloxacina - que produce un efecto sobre el crecimiento del actinomiceto.

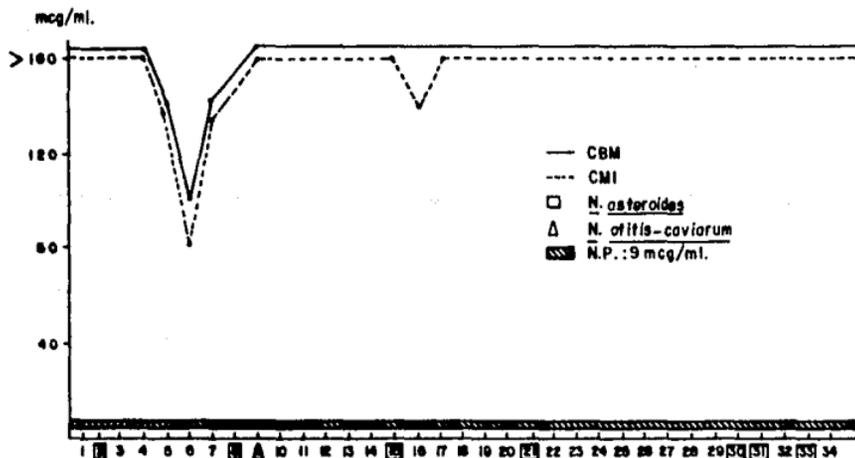
- b) Concentración bactericida mínima (CBM): Es La mínima concentración de ciprofloxacina - capaz de inhibir totalmente el crecimiento del actinomiceto.

Los valores obtenidos de CMI y CBM para cada cepa de actinomicetos frente a los correspondientes fármacos estudiados, se ilustran a continuación gráficamente. Cabe mencionar que el agente etiológico más frecuente es N. brasiliensis (85%), por lo que sólo se empleó una simbología especial para distinguir a N. otitis-caviarum y N. asteroides.

DETERMINACION IN VITRO DE LA CMI Y CBM EN 34 CEPAS DE ACTINOMYCETOS
EMPLEANDO AMIKACINA



DETERMINACION IN VITRO DE LA CIM Y CBM EN 34 CEPAS DE ACTINOMICETOS
 EMPLEANDO DIAMINODIFENILSULFONA (DDS)

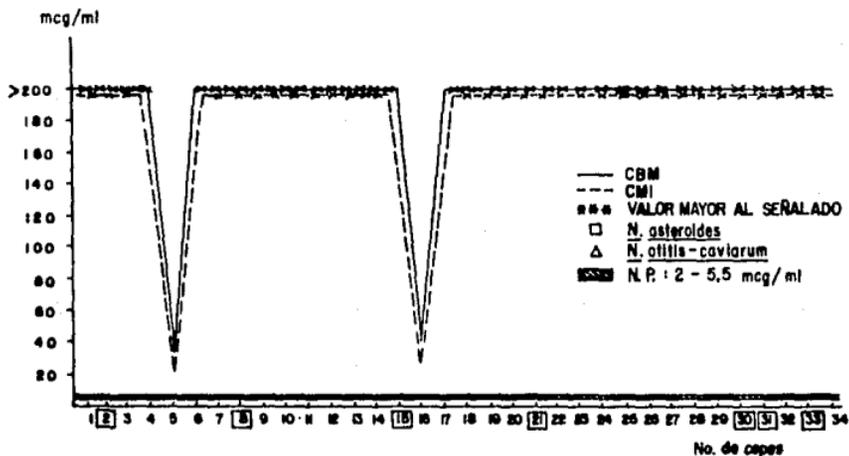


* CBM = CONCENTRACION BACTERICIDA MINIMA

No. de cepas

* CMI = CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA

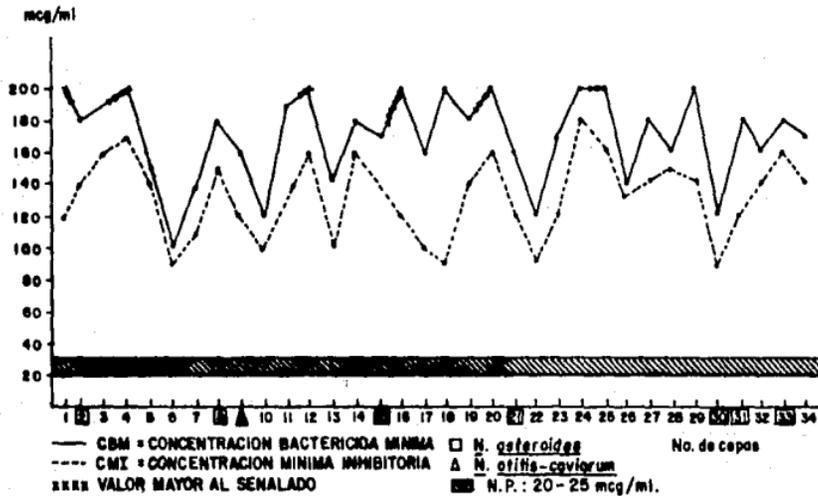
DETERMINACION "IN VITRO" DE LA CMI Y CBM EN 34 CEPAS DE ACTINOMICETOS
 EMPLEANDO FOSFOMICINA



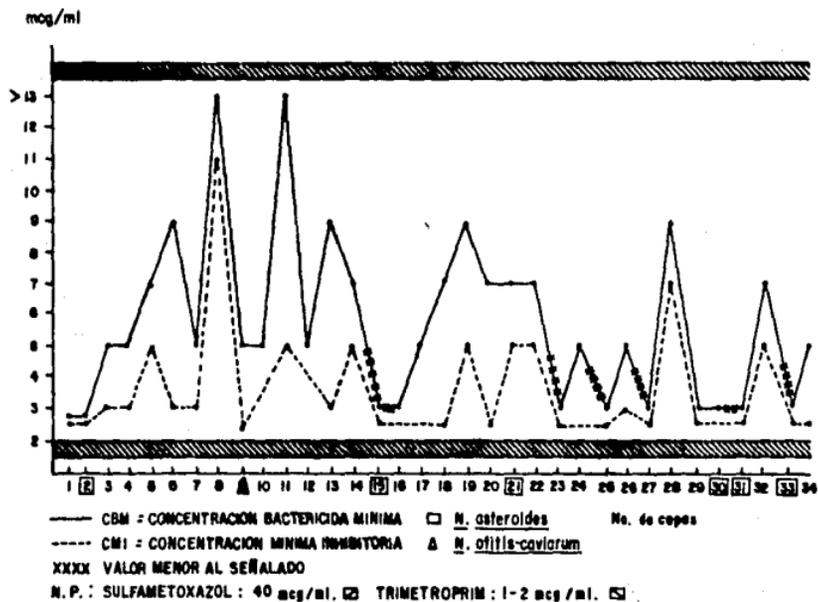
* CBM = CONCENTRACION BACTERICIDA MINIMA

* CMI = CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA

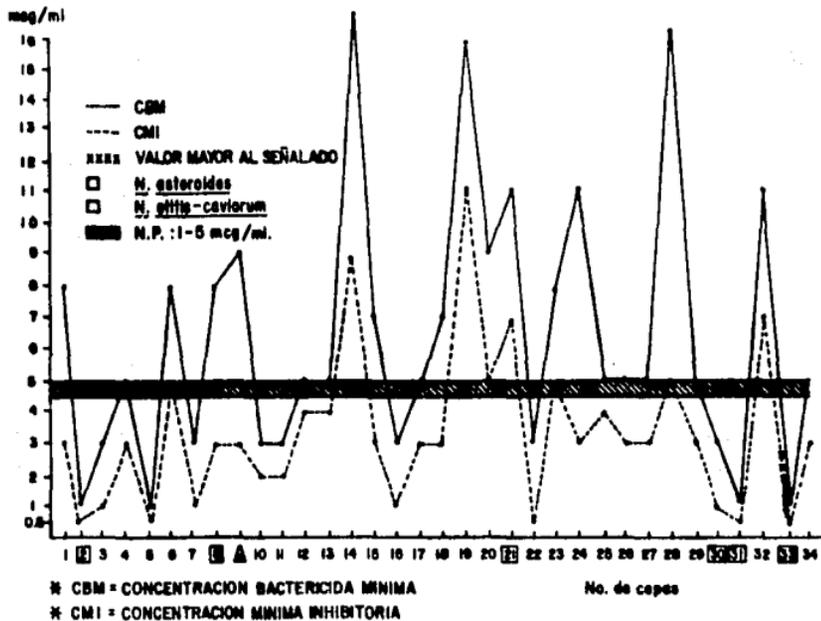
DETERMINACION "IN VITRO" DE LA CMI Y CBM EN 34 CEPAS DE ACTINOMICETOS
 EMPLEANDO ESTREPTOMICINA



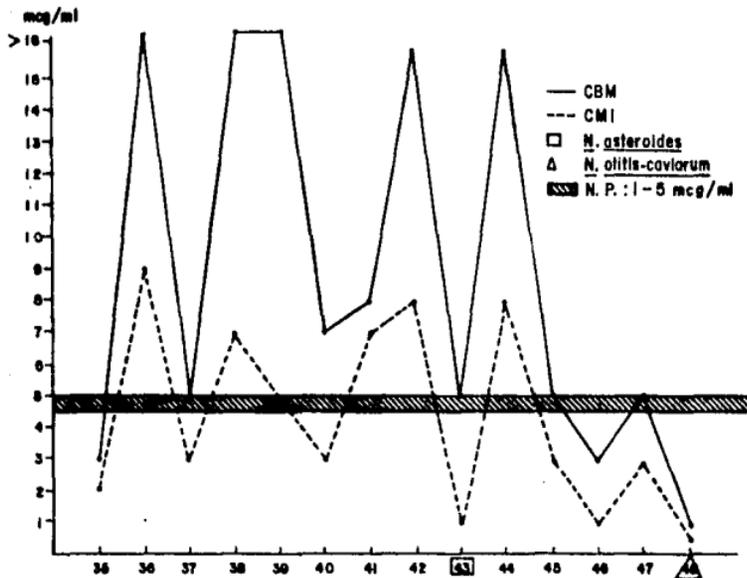
DETERMINACION "IN VITRO" DE LA CMI Y CBM EN 34 CEPAS DE ACTINOMICETOS
 EMPLEANDO TRIMETROPRIM-SULFAMETOXAZOL



DETERMINACION IN VITRO DE LA CMI Y CBM EN 34 CEPAS DE ACTINOMICETOS
EMPLEANDO CIPROFLOXACINA



DETERMINACION IN VITRO DE LA CMI Y CBM EN 14 CEPAS DE ACTINOMICETOS
EMPLEANDO CIPROFLOXACINA



* = CBM = CONCENTRACION BACTERICIDA MINIMA

* = CMI = CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA

"ESTADISTICA"

1.- Hipótesis General: La ciprofloxacina tiene acción - "in vitro" frente a 34 cepas de actinomicetos.

Hipótesis nula: La ciprofloxacina NO tiene acción - "in vitro" frente a 34 cepas de actinomicetos.

2.- Criterios de inclusión:

- a) Se emplearon solamente cepas patógenas aisladas de pacientes con micetoma actinomicético, que --acudieron a la Unidad de Dermatología del Hospital General de México.
- b) La temperatura a la que se trabajó fue de 35°C.
- c) El medio utilizado fue BHI para la determinación de la CMI y CBM.
- d) Una cepa fue sensible cuando el valor de la CMI o CBM se encontró por debajo del nivel plasmático. (O₁)
- e) Una cepa es resistente cuando el valor de la CMI o CBM se encuentra por arriba del nivel plasmático. (O₂)

3.- Operacionalización de variables:

Variable independiente: Fármaco

Variable dependiente: Cepa

Método de la CHI CUADRADA:Valor crítico para χ^2_{99} para un grado de libertad: 6.63

Fórmula:

$$\chi^2 = \frac{(O_1 - e_1)^2}{e_1} + \frac{(O_2 - e_2)^2}{e_2}$$

donde:

O_1 = Valor observado (# de cepas sensibles).

e_1 = Valor esperado (mitad del valor total de cepas que se esperan sensibles).

O_2 = Valor observado (# de cepas resistentes).

e_2 = Valor esperado (mitad del valor total que se esperan resistentes).

- a) Con respecto a la CMI de la amikacina en las 34 cepas tenemos que:

$$\chi^2 = 14.2$$

Puesto que $14.2 > 6.63$ se rechaza la hipótesis de que no hay una relación causa-efecto del medicamento sobre el microorganismo. Estos resultados son estadísticamente significativos. No es un evento dado al azar, sino que existe una relación entre el valor observado y el esperado.

- b) Con respecto a la CBM de la amikacina en las 34 cepas tenemos que:

$$\chi^2 = 11.6$$

De la misma forma que en el caso de la CMI, se rechaza la hipótesis de que NO hay una relación causa-efecto del medicamento sobre las cepas de actinomicetos. Los resultados tienen validez estadística con un 99% de confiabilidad.

- c) Con respecto a la CMI de la ciprofloxacina tenemos -- que:

$$\chi^2 = 19.8$$

Por lo tanto, los resultados son estadísticamente significativos con un 99% de confiabilidad.

- d) Con respecto a la CBM de la ciprofloxacina tenemos -- que:

$$\chi^2 = 1.05$$

En este caso puede observarse que como $1.05 < 6.63$ NO se puede rechazar la hipótesis de que no hay relación entre el medicamento y el microorganismo; es decir, SE ACEPTA que no existe dicha relación. Estos resultados, en base a la χ^2 obtenida poseen solamente un 50% de confiabilidad. (Dato de tablas)

- e) Para el estudio de la ciprofloxacina frente a 48 cepas en total, tenemos que para la CMI:

$$\chi^2 = 18.6$$

El valor obtenido nos indica que los resultados-

son estadísticamente significativos.

- f) Con respecto a la CBM de la ciprofloxacina en 48 cepas, tenemos que:

$$\chi^2 = 0.75$$

Por lo tanto, estos resultados NO son estadísticamente significativos ya que éstos poseen una confiabilidad menor del 50%.

- g) De igual forma, se observa que NO existe una diferencia significativa entre los resultados POSITIVOS (SENSIBLES) de ambos medicamentos (amikacina y ciprofloxacina), ya que $\chi^2 = 0.46$

DISCUSION:

Se manejaron un total de 34 cepas de actinomicetos patógenos, para valorar a cada uno de los fármacos:

27 cepas = N. brasiliensis

6 cepas = N. asteroides

1 cepa = N. otitis-caviarum

En las gráficas correspondientes, se establece el siguiente criterio:

--Aquella cepa cuya concentración mínima inhibitoria (CMI), se encuentre por debajo o bien en el límite del nivel plasmático, se le considera SENSIBLE.

--Aquella cepa cuya CMI esté por arriba del nivel plasmático, se considera RESISTENTE.

Se determinó en igual forma la concentración bactericida mínima (CBM) de cada cepa, con el fin de observar si todavía se encuentra comprendida dentro del "rango de sensibilidad"; sin embargo, para fines clínicos es de mayor importancia la CMI, ya que nos indica que existe un efecto de inhibición del antibiótico, sobre el crecimiento --

del microorganismo.

1) Amikacina:

a) Con respecto a la CMI tenemos:

Cepas sensibles: 91.1%
Cepas resistentes: 8.9%
moda: 5.0 mcg/ml

b) Con respecto a la CBM tenemos:

Cepas sensibles: 82.3%
Cepas resistentes: 17.6%
moda: 5.0 mcg/ml

Como puede observarse en los resultados, la acción de este fármaco puede estudiarse bajo un modelo experimental "in vitro", a través del cual es posible aportar datos de sensibilidad y resistencia. Dichos resultados poseen una significancia estadística, misma que incrementa la importancia de este estudio.

La amikacina, en comparación a los otros fármacos en estudio, tiene la mayor actividad frente a los actinomicetos, ya que cabe observar que el 91.1% de las

cepas son sensibles a una concentración media > 5 mcg/ml (en base a la CMI). Esto es interesante, ya que la amikacina clínicamente ha demostrado ofrecer los mejores resultados, con el menor tiempo de terapia, bajo la experiencia propia del Servicio.

La vía de administración de este fármaco, al igual -- que la de otros aminoglucósidos es la intravenosa, lo que permite alcanzar con mayor rapidez los niveles plasmáticos, pero que a la vez resulta molesto al paciente. (5)

La amikacina presenta el inconveniente entre otros -- efectos, el de producir toxicidad renal, por lo que no -- puede administrarse a todos los pacientes, ni puede utilizarse por tiempo prolongado. Debe utilizarse únicamente como terapia inicial, pero siempre bajo un control clínico y de laboratorio. (5)

Su costo es elevado, condición que limita en ocasiones al paciente a llevar a cabo dicha terapia.

2) Diaminodifenilsulfona (DDS):

Para la DDS, no es de gran utilidad hacer el estudio "in vitro", para comprobar su acción, ya que no es

posible observar un efecto bactericida aún a concentraciones muy superiores al nivel plasmático. A pesar de esto, y en base a la experiencia clínica diaria y bibliográfica (1), es el tratamiento base en la terapia del micetoma desde hace 40 años. (Latapí, 1947)

Su administración es por vía oral y en ocasiones se combina con trimetoprim-sulfametoxazol. Deberá existir un control clínico y de laboratorio, ya que este tipo de fármacos generan algunos problemas hematológicos, y es un medicamento de largo plazo (años). (5)

3) Fosfomicina:

Al igual que la DDS, no es posible valorar la acción "in vitro" de dicho fármaco; es decir, no se ajusta a un modelo experimental. Sin embargo, su empleo en la terapia del micetoma, en ocasiones produce buenos resultados, pero tiene el inconveniente de producir algunos efectos colaterales. Algunos autores (15), reportan un gran índice de resistencia. Sólo un 37% se absorbe por vía oral, por lo que su aplicación es intravenosa.

4) Estreptomina:

La acción de la estreptomina frente a cepas de actinomicetos puede valorarse "in vitro"; sin embargo, los resultados demuestran que sólo a concentraciones superiores a 80 mcg/ml, existe un efecto bactericida sobre el microorganismo. Puede emplearse estreptomina en combinación con sulfas en la terapia del micetoma, en ocasiones con buenos resultados. Se prefiere la administración intravenosa del medicamento para alcanzar niveles plasmáticos más altos. (1, 6)

Es importante tener presente la ototoxicidad causada por dicho fármaco, que aunque es poco frecuente, constituye un serio problema. (5)

5) Trimetoprim-sulfametoxazol:

Los resultados obtenidos de la actividad "in vitro", son comparables a los observados en la clínica. El 100% de las cepas estudiadas mostraron sensibilidad al fármaco, a una concentración media de 3 mcg/ml; sin embargo, no es raro encontrar casos de resistencia.

El trimetoprim-sulfametoxazol, tiene la mayor activi-

dad, después de la amikacina, aún cuando su vía de administración ha sido predominantemente oral. Su reciente presentación en solución inyectable (i.v.), aunque no se ha empleado clínicamente para micetoma, quizá ofrecería ventajas como el de poder obtener niveles plasmáticos superiores y probablemente resultados tan buenos como los de la amikacina.

En general, son pocos los efectos colaterales, aunque en algunos pacientes ocurren trastornos hematológicos, -- renales, convulsivos y puede desembocar hasta en un síndrome de Steven Johnson (5). No resulta extraño, encontrar casos de sulforresistencia, provocados por la suspensión periódica del fármaco.

Es importante mencionar que los sensibilizadores frabricados por las casas comerciales, no son útiles para valorar la acción "in vitro" de las sulfas, ya que hasta la fecha no se cuenta con un método totalmente estandarizado. (58) Uno de los factores más importantes lo constituye el hecho de que las cepas de actinomicetos catalogados como de crecimiento "lento" (mayor a 72 horas), NO pueden ser estudiadas bajo este método, además de que los resultados son dependientes del inóculo empleado. (58) Es por este motivo, que se prefiere valorar la actividad de las sulfas y otros fármacos en medios líquidos, mediante diluciones-

seriadas.

El costo del trimetoprim-sulfametoxazol es relativamente bajo, por lo que es más accesible al paciente.

6) Ciprofloxacina:

El modelo de investigación "in vitro", puede emplearse para el estudio de la actividad de la ciprofloxacina frente a actinomicetos. Los resultados obtenidos son estadísticamente significativos en base a la CMI, no siendo de la misma forma para la CBM; sin embargo, como hemos mencionado anteriormente, clínicamente es de mayor -- importancia la primera, ya que ésta indica que el fármaco tiene efecto sobre el microorganismo.

La ciprofloxacina es una nueva molécula, que pertenece al grupo de las quinolonas, y que demuestra tener una actividad comparable a la del trimetoprim-sulfametoxazol.

a) Con respecto a la CMI en 34 cepas tenemos:

Cepas sensibles: 88.3%

Cepas resistentes: 11.8%

moda: 3.0 mcg/ml

b) Con respecto a la CBM en las mismas 34 cepas tenemos:

Cepas sensibles: 68,8%
Cepas resistentes: 41.2%
moda: 5.0 mcg/ml

c) Con respecto a la CMI en 48 cepas tenemos:

Cepas sensibles: 81.2%
Cepas resistentes: 18.7%
moda: 3.0 mcg/ml

d) Con respecto a la CBM en 48 cepas tenemos:

Cepas sensibles: 54.6%
Cepas resistentes: 43.7%
moda: 5.0 mcg/ml

No existe experiencia clínica alguna con este medicamento en la terapia del micetoma; sin embargo, podría sugerirse su empleo en caso de sulforresistencia. Aunque nuestro objetivo NO fue valorar su acción "in vivo", se administró ciprofloxacina por vía oral (500 mg/12 horas) a dos pacientes por un período de 3 meses, observándose resultados semejantes a los del trimetoprim-sulfametoxazol; Por lo tanto, podemos afirmar que la ciprofloxacina,

NO posee una acción más rápida que el trimetoprim-sulfametoxazol; esto constituye una desventaja debido al alto costo del medicamento.

Por otro lado, se sabe que la ciprofloxacina es bien tolerada por la mayoría de los pacientes debido a los pocos efectos colaterales. (53, 54, 55, 56, 57). No produce genotoxicidad y tiene la ventaja de que su vía de administración es oral, su gran volumen de distribución --- permite una excelente penetración tisular (34), existe un índice muy bajo de resistencia (menor de 10^{-9}), ya que --- ésta sólo se adquiere por mutaciones y no a través de --- plásmidos. (12, 13)

En general, los sensidiscos de casas comerciales pueden emplearse para valorar la acción "in vitro" de la ciprofloxacina, siempre y cuando se trate de una cepa de --- crecimiento rápido (24 horas), ya que de otra forma los --- resultados no son confiables; por esta razón, se prefiere el empleo del método de diluciones seriadas en tubo. (59, 60, 61, 62)

Resultados en caja empleando sensidiscos para S. somaliensis, A. pelletieri y A. madurae.

a) S. somaliensis:

Trimetoprim-sulfametoxazol	25 mcg/ml = 4.0 cm
Amikacina	30 mcg/ml = 6.2 cm
Estreptomycin	10 mcg/ml = 5.0 cm
Ciprofloxacina	7 mcg/ml = 5.0 cm

b) A. pelletieri:

Trimetoprim-sulfametoxazol	25 mcg/ml = 3.5 cm
Amikacina	30 mcg/ml = 7.5 cm
Ciprofloxacina	7 mcg/ml = 5.0 cm
Estreptomycin	10 mcg/ml = No se observó halo de inhibición.

c) A. madurae:

Trimetoprim-sulfametoxazol	25 mcg/ml = 4.0 cm
Amikacina	30 mcg/ml = 7.0 cm
Ciprofloxacina	7 mcg/ml = 5.0 cm
Estreptomycin	10 mcg/ml = No se observó halo de inhibición.

Conforme a los datos anteriores, podemos observar que la amikacina sigue presentando la mejor actividad frente a actinomicetos, ya que produce el mayor halo de inhibición; sin embargo, de no poder llevarse a cabo dicha terapia, la ciprofloxacina representa una segunda opción.

Las cepas estudiadas no presentaron una adaptación al medio líquido, por lo que no pudieron ser valoradas por el método de dilución seriada, pero al ser catalogadas -- como de crecimiento "rápido" (24 horas), es posible utilizar los sensidiscos.

COMENTARIO:

En base al estudio realizado, podemos afirmar que el modelo "in vitro" NO siempre funciona para un fármaco; -- sin embargo, de aquéllos en los que se puede aplicar, se obtienen datos importantes, como son el determinar si la cepa es resistente, o bien si el problema radica en el -- huésped por diversas causas como son: una mala absorción, problemas de metabolismo, ingesta de antiácidos, intolerancia o hipersensibilidad.

Con el presente estudio, pretendemos hacer un análisis "in vitro" de una nueva molécula en la terapia del micetoma, así como una comparación de la ciprofloxacina frente a los fármacos más empleados. Esperamos que este trabajo aporte nueva información y dé origen a posteriores investigaciones en el tan interesante tema de la terapia de -- los micetomas, por ser la micosis profunda (subcutánea),- de mayor importancia en nuestro medio.

CONCLUSIONES

- 1.- La valoración "in vitro" de los fármacos: sulfametoxazol-trimetoprim, amikacina y ciprofloxacina, mediante el método de dilución seriada, es efectivo y aporta datos de la sensibilidad de los actinomicetos patógenos más frecuentes en nuestro medio.

- 2.- La valoración "in vitro" de los fármacos: fosfomicina, estreptomycin y diaminodifenilsulfona (DDS), mediante el método de dilución seriada, NO aporta datos de la sensibilidad de los actinomicetos, pesa a que "in vivo" son efectivos.

- 3.- Los resultados obtenidos de la actividad de los fármacos: amikacina, sulfametoxazol-trimetoprim y ciprofloxacina, son significativos y reproducible mediante el modelo estadístico utilizado.

- 4.- La actividad de la ciprofloxacina frente a los actinomicetos patógenos, es similar a la obtenida con sulfametoxazol-trimetoprim, pero no superior a la --

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

79

amikacina. Por lo tanto, podría en determinado caso emplearse como terapia sustituta.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Bonifaz, A. Micología Médica Básica. Ed. Méndez---Cervantes. México, D.F. 1990
- 2.- Saúl, A. Micetoma. In: Lecciones de Dermatología. 10a. edición. Ed. Méndez-Cervantes. México, D.F. - 1983 pp: 128-138
- 3.- Sheikh Mahgoub, Murray, G. Mycetoma. 2a. edición. The Whitefriars Press Ltd. London, Tonbridge. 1973
- 4.- Bonifaz, A., Fong, Y. Función Leucocitaria de Polimorfonucleares en Pacientes con Micetoma Actinomicético. Dermatología Rev Mex. 1989;3:171-174
- 5.- Goldstein, A. et al. Farmacología. Ed. Limusa. México, D.F. 1979
- 6.- Bach, C. et al. Susceptibility of *N. asteroides* to - 45 antimicrobial agents "in vitro". Antimicrob --- Agents Chemother. 1973;3:1-8
- 7.- Dalovisio, R. et al. "In vitro" susceptibility of -- *N. asteroides* to amikacin. Antimicrob Agents Chemo- ther. 1978;13:128-129
- 8.- Wallace, J. et al. Differences among *Nocardia* sp. in susceptibility to aminoglycosides and beta-lactam -- antibiotics and their potential use in taxonomy. -- Antimicrob Agents Chemother. 1983;23:19-21
- 9.- Welsh, O. et al. Amikacin alone and in combination - with trimethoprim-sulfametoxazol in the treatment -- of actinomycotic mycetoma. J Am Acad Dermatol. --- 1987;17:443-8
- 10.- García, J.A. et al. Amikacin was the most effective of 7 agents tested "in vitro" against *N. asteroides*. Antimicrob Agents Chemother. 1979;5:610
- 11.- Dalovisio, J.R. et al. Amikacin "in vitro" inhibited 44% of 27 strains of *Nocardia* at concentrations less than 0.25 mcg/ml. Antimicrob Agents Chemother. -- 1978;13:128

- 12.- Zeiler, H.J. et al. Actividad antibacteriana "in vitro" de la ciprofloxacina. Ciprofloxacina Monografía del Producto. Bayer. México, D.F. 1989 --- pp:32-40
- 13.- Andriole, T. The Quinolones. Academic Press. San Diego, Calif. 1988
- 14.- García, J.A., "In vitro" activity of New Quinolones: An overview. In: Ciprofloxacina, Microbiology-Pharmacokinetics-Clinical Experience. Proceedings of - 6th Mediterranean Congress of Chemotherapy. Taormina-Italia. 1988 Bayer. RFA. pp:3-11
- 15.- Neu, c. et al. Ciprofloxacina: An overview and Prospective Appraisal. Am J Med. 1987;82:395-404
- 16.- Nai-Xun, Ch., Harold, N. Ciprofloxacina, a Quinolone Carboxylic Acid Compound active against aerobic and anaerobic bacteria. Antimicrob Agents Chemother. - 1984;25:319-326
- 17.- Fass, R., "In vitro" activity of Ciprofloxacina (Bay o 9867). Antimicrob Agents Chemother. 1983;24:568-574
- 18.- Sanders, Ch. et al. Overview of Preclinical Studies with Ciprofloxacina. Am J Med. 1987;82:2-11
- 19.- Gay, D. et al. "In vitro" activities of Norfloxacina and Ciprofloxacina against Mycobacterium tuberculosis, M. avium Complex, M. chelonae, M. fortuitum --- and M. kansasii. Antimicrob Agents Chemother. --- 1984;26:94-96
- 20.- Marinis, E., "In vitro" activity of Ciprofloxacina - against Clinical Isolates of Mycobacteria resistant to antimycobacterial Drugs. Antimicrob Agents Chemother. 1985;16:527-530
- 21.- Collins, Ch., "In vitro" susceptibility of Mycobacteria to Ciprofloxacina. Antimicrob Agents Chemother. 1985;16:525-530
- 22.- Fenion, Ch., Comparative "in vitro" activities of Ciprofloxacina and other 4-quinolones against Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium intracellulare. Antimicrob Agents Chemother. 1986;29:386-388
- 23.- Young, S., Activity of Ciprofloxacina and other -- fluorinated quinolones against Mycobacteria. Am J -

- Med. 1987;82:23-26
- 24.- Joachim, H., Efficacy of Ciprofloxacin in Stationary Phase Bacteria "in vivo". Am J Med. 1987;82: 87-90
 - 25.- Smith, J.T., Mecanismo de acción de los inhibidores de la girasa. Ciprofloxacina Monografía del Producto. Bayer. México, D.F. pp:19-31
 - 26.- Worcel, A., Studies on the folded chromosome of E. coli. Tomado de: Smith, J.T. Mecanismo de acción de los inhibidores de la girasa. Ciprofloxacina Monografía del Producto. Bayer. México, D.F. pp: 19-31
 - 27.- Gellert, M. et al. DNA gyrase: An enzyme that introduces super helicoidal turns into DNA. Tomado de Ref: 25
 - 28.- Hooper, D. et al. Mechanisms of action of and resistance to Ciprofloxacin. Am J Med. 1987;82:12-20
 - 29.- Weisser, J., Brief Report: Effects of Ciprofloxacin on Plasmids. Am J Med. 1987;82:21-22
 - 30.- Wolfson, J.S. et al. The fluoroquinolones: structures, mechanisms of action and resistance, and spectrum of activity "in vitro". Antimicrob Agents-Chemother. 1985;28:581-586
 - 31.- Hane, M., Escherichia coli K12 mutants resistant to nalidixic acid: Genetic mapping and dominance studies. Tomado de Ref: 25
 - 32.- Beerman, D. et al. Farmacocinética de Ciprofloxacina. Ciprofloxacina Monografía del Producto. Bayer. México, D.F. pp:42-49
 - 33.- Barrieri, S., Economic Impact of Oral Ciprofloxacin: A Pharmacist's Perspective. Am J Med. 1987; 82:387-390
 - 34.- Bergan, T. et al. Pharmacokinetics of Ciprofloxacin: Intravenous and Increasing Oral Doses. Am J Med. 1987;82:97-102
 - 35.- Drusano, G., An Overview of the Pharmacology of Intravenously Administered Ciprofloxacin. Am J Med. 1987;82:339-345
 - 36.- Dudley, M. et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Intravenous Ciprofloxacin. Am J Med. 1987;

- 82:363-368
- 37.- Hoffken, G., Pharmacokinetics of Ciprofloxacin after Oral and Parenteral Administration. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985;27:375-379
 - 38.- González, M.A. et al. Multiple dose pharmacokinetics and safety of Ciprofloxacin in normal volunteers. *Antimicrob Agents Chemother.* 1984;26:741-744
 - 39.- Gasser, C.T., Pharmacokinetic study of Ciprofloxacin in patients with impaired renal function. *Am J Med.* 1987;82:139-141
 - 40.- Lebel, M., Pharmacokinetics in the Elderly. *Am J Med.* 1987;82:108-114
 - 41.- Speciale, A. et al. "In vitro" comparison of Ciprofloxacin to parenteral antibiotics. In: *Ciprofloxacin Microbiology-Pharmacokinetics-Clinical Experience. Proceedings of 6th Mediterranean Congress of Chemotherapy. Taormina-Italia. 1988 Bayer.* -- RFA pp:3-11
 - 42.- Bergan, T., Pharmacokinetics of Ciprofloxacin with reference to other fluorinated quinolones. *Tomado de Ref: 37*
 - 43.- Gialdroni, G. et al. Pharmacokinetics of Oral Ciprofloxacin in Sick Patients. *Tomado de Ref: 37* -- pp:71-71
 - 44.- Arcieri, G., Ciprofloxacin: An update on clinical experience. *Am J Med.* 1987;2:381-386
 - 45.- Wise, R., Tissue Penetration and Metabolism of Ciprofloxacin. *Am J Med.* 1987;82:103-107
 - 46.- Crump, B., The Pharmacokinetics and Tissue Penetration of Ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1983;24:784-786
 - 47.- Saily, B., Treatment of Serious Infections with - Intravenous Ciprofloxacin. *Am J Med.* 1987;82:369-375
 - 48.- Giamarellou, H., Use of Intravenous Ciprofloxacin in Difficult-to-treat Infections. *Am J Med.* 1987; 82:346-351
 - 49.- Meissner, A. et al. Ciprofloxacin in Bone Tissue. *Tomado de Ref: 37* pp:43-46

- 50.- Gialdroni, G. et al. Pharmacokinetics of Oral Ciprofloxacin in Sick Patients. Tomado de Ref: 37 pp:71-74
- 51.- Rubinstein, E., Drug Interactions of Ciprofloxacin with other NON-antibiotic agents. Am J Med. 1987; 82:119;123
- 52.- Ledergerber, B., Effect of Standard Breakfast on Drug Absorption and multiple dose pharmacokinetics of Ciprofloxacin. Antimicrob Agents Chemother. -- 1985;27:350-352
- 53.- Schlüter, G., Ciprofloxacin: Review of Potential-Toxicologic Effects. Am J Med. 1987;82:91-93
- 54.- McQueen, Ch., et al. Effects of Quinolone Antibiotics in Tests for Genotoxicity. Am J Med. 1987;82: 94-96
- 55.- Hooper, D.C., The fluoroquinolones: Pharmacology, Clinical Uses and Toxicities in Humans. Antimicrob Agents Chemother. 1985;28:716-721
- 56.- Modai, J., Safety Profile of Oral Quinolones. Tomado de Ref: 37 pp: 79-81
- 57.- Shah, M et al. Safety Profile to Quinolones. Tomado de Ref: 37 pp:83-91
- 58.- Wallace, R. et al. Disk Diffusion Susceptibility - of Nocardia Species. J Inf Dis. 1977;135:568-576
- 59.- Grimm, H. "In vitro" Study with Ciprofloxacin: Interpretive Criteria of Agar Diffusion Test According to Standard of the NCCLS and DIN. Am J Med. 1987; 82:376-380
- 60.- De la Cruz, R. Prueba de sensibilidad bacteriana - a antimicrobianos. Infect. 1987;4:183-188
- 61.- Pichardo, E. Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos. Infect. 1982;3:215-222
- 62.- Giono, S. Prueba de Bauer-Kirby para sensibilidad - a los antimicrobianos. Infect. 1983;7:325-353
- 63.- Daniel, W. Bioestadística. 3a. edición. Ed. Limusa. México, D.F. 1987 pp:459-461