



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

EVALUACION DE LA FARMACOCINETICA DE FOSFOMICINA
EN DE CERROS (VIA INTRAVENOSA)

TESIS

PRESENTADA ANTE LA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

POR

MARTNA DE GUADALUPE CARRILLO MARTINEZ

ASESORES:

MVZ HECTOR SUMANO LOPEZ

MVZ LUIS OCAMPO CAMBEROS



MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis padres:

Quienes me han enseñado el gran significado de la vida y que gracias a su apoyo, comprensión, paciencia y cariño he podido llegar a la finalización de este trabajo. Por tu gran ejemplo y espíritu de lucha , gracias papá. Mamá gracias por tus oraciones, por todo lo que me has enseñado y lo más importante; gracias por darme la vida.

Agradecimientos

- Al Doctor Héctor Sumano López por su paciencia, confianza, apoyo, dedicación y tiempo brindados para la realización de este trabajo.
- Al Doctor Luis Ocampo Camberos por su apoyo, confianza, tiempo y colaboración.
- A Corina Hevia del Puerto Puente por su ayuda incondicional y apoyo en todo momento.
- A mis hermanos Antonio y Pearl por su comprensión. A ti Connie; gracias por tu ayuda y apoyo.
- A Jimmo por su paciencia, confianza y apoyo. Gracias por creer en mí, por quererme y por estar a mi lado.
- A Anaí por su amistad, ayuda y paciencia, así como por todo lo que hemos vivido juntas.
- A Adolfo Kunio por su enorme ayuda, tiempo y amistad.
- A Jesús Lugo por toda su ayuda.
- A mis sinodales:
 - MVZ. Adolfo K. Yabuta O.
 - MVZ. Miguel A. Quiroz M.
 - MVZ. Sara Caballero Chacón
 - MVZ. Enequina Silva Cabrera
 - MVZ. Héctor Sumano López

Gracias

- Le doy gracias a Dios por ayudarme a llegar hasta donde estoy.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
OBJETIVO.....	9
MATERIAL Y MÉTODOS.....	10
RESULTADOS.....	15
DISCUSIÓN.....	16
LITERATURA.....	18
CUADROS.....	20
FIGURAS.....	25

RESUMEN

CARRILLO MARTÍNEZ, MARTHA DE GUADALUPE. Evaluación de la farmacocinética de fosfomicina en becerros (vía intravenosa). Bajo la dirección de: MVZ Héctor Sumano López y MVZ Luis Ocampo Camberos.

Se determinó la farmacocinética de la fosfomicina en 5 becerros a los que se les administró fosfomicina por vía intravenosa a una dosis de 10 mg/kg cada 12 horas a manera de bolo durante dos días. Se obtuvieron muestras sanguíneas durante varios tiempos seriados a lo largo del tratamiento. La fosfomicina mostró una distribución moderada extraplasmaica, y su vida media permaneció constante. La relación entre concentración y tiempo de la fosfomicina se ajustó mejor a un modelo de dos compartimientos, con un volumen de distribución aparente en el estado estable de 4.62 l/kg. En virtud de la depuración observada y considerando el argumento propuesto recientemente para fijación de los periodos de retiro (16), es muy factible que la eliminación por completo de la fosfomicina en esta especie se logre en tan solo 24 horas, con un periodo de eliminación de residuos de 2 y máximo 3 días. Dado que el modelo que se propone para la fosfomicina es el de dos compartimientos en algunos casos y de uno en otros, no siempre se pudo lograr el cálculo de K_{12} y K_{21} , en el primer caso, representa la velocidad de paso del medicamento de la sangre a la periferia, "constante" ésta que, dados los V_d que se obtuvieron, resulta congruente que sea más baja que la K_{21} , que representa el paso de tejidos a sangre.

INTRODUCCIÓN

La fosfomicina es el primer antibiótico de molécula completa original descubierta en España, que ha llegado a usarse terapéuticamente en la clínica humana. Este nuevo antibiótico es el producto de la fermentación de una cepa especial de *Streptomyces fradiae* aislada en una muestra de tierra de la provincia de Alicante. Su actividad antibacteriana fue reconocida por primera vez en los laboratorios de la Compañía Española de la Penicilina y Antibióticos, S.A., en un programa de investigación llevado a cabo conjuntamente con Estados Unidos de Norteamérica. La primera fábrica de producción de fosfomicina se ubicó en Aranjuez y el fármaco fue lanzado al mercado en 1973 bajo el nombre comercial de Fosfocina (13).

La fosfomicina es un antibiótico que no pertenece a algún grupo de fármacos en particular y actúa sobre las bacterias inhibiendo la formación de la pared celular en su primera etapa. Presenta actividad bactericida de amplio espectro y ausencia de resistencia transferible o cruzada con otros antimicrobianos. Además de su potente actividad en el plasma, presenta acción bactericida dentro de las células polimorfonucleares del organismo (14). Se ha estudiado la actividad antibacteriana *in vitro* de la fosfomicina contra *Pasteurella piscicida* y se definieron sus concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), también mostró un alto grado de actividad en 116 tipos de bacterias anaerobias puestas a prueba (11). En veterinaria uno de los pocos trabajos efectuados a la fecha ha sido en la familia de los leporidos. Estos animales recibieron 80 mg/kg/día, lográndose niveles máximos del fármaco en el fluido del tejido intersticial equivalentes a 80.4 µg/ml. La vida media de eliminación del sistema circulatorio en la dosis única fue 1.6 horas (9). Existen trabajos donde se evalúa la eficacia de la fosfomicina en combinación con ciprofloxacina o con pefloxacina, utilizando conejos con endocarditis de la válvula aórtica inducida con una cepa de *Pseudomona aeruginosa*. Se concluyó que la combinación de fosfomicina con ciprofloxacina o pefloxacina fue más eficaz al utilizarlos así que por separado (18). Sin embargo, no hay datos de su farmacocinética en otras especies domésticas (9).

Así mismo hay pocos informes del estudio de la fosfomicina en medicina veterinaria, pero es muy probable que por su actividad demostrada pueda llegar a ocupar un lugar importante. Un dato relevante para la clínica de animales domésticos, es que en algunos ensayos iniciales se ha demostrado que la fosfomicina al igual que otros antibióticos como el metronidazol, presentó buena actividad contra cepas de campo de *Actinobacillus pleuropneumoniae* (5).

Características Físico-Químicas

La molécula de la fosfomicina es muy sencilla y completamente distinta a la de otros antibióticos de uso clínico: es el isómero "(-) cis" del ácido 1-2-epoxipropilfosfónico. Es una molécula pequeña que tiene dos características poco comunes, a las que se les adscribe la actividad antibiótica de este antimicrobiano: el grupo epóxido raro entre los antibióticos, y un enlace directo carbono-fósforo el que por primera vez se ha hallado entre los productos naturales elaborados por bacterias (13). Los otros tres isómeros posibles "(+) cis", "(-) trans" y "(+) trans" son antibióticamente inactivos (Figura 1) (12). De tal suerte la fosfomicina es acreditada como el primer antibiótico fosfónico.

La fosfomicina es una sustancia de bajo peso molecular (138.1), ópticamente activa, soluble en agua, muy polar y con propiedades ácidas, capaz de formar sales estables a pH fisiológico con bases orgánicas e inorgánicas. Su sencillez estructural ha permitido su producción por síntesis química de sus sales sódica y cálcica, usadas actualmente en las formas orales y parenterales (12). La primera de ellas es muy soluble y se emplea en forma parenteral, mientras que la sal cálcica, siendo poco soluble, se usa por vía oral (13).

* Patente Europea 68495-123-A-Mx

Mecanismo de la acción antibiótica.

La fosfomicina penetra en las células bacterianas aprovechando dos sistemas activos de transporte: el de la L- α - glicerofosfato, siempre presente en las bacterias sensibles, y el de la hexosa-6-fosfato, la cual solamente está disponible en ciertas especies y requiere ser inducido especialmente por glucosa-6- fosfato (7).

Una vez en el citoplasma, la fosfomicina bloquea la biosíntesis de la pared celular causando su muerte. Esto sucede por que la fosfomicina inhibe selectiva e irreversiblemente la enzima piruvil- transferasa que cataliza la primera reacción en la síntesis de la pared bacteriana (4).

Características Microbiológicas y Farmacológicas

Las características microbiológicas son:

- 1.- Posee un amplio espectro de actividad *in vitro* contra bacterias aerobias Gram positivas y Gram negativas, incluyendo cepas multiresistentes a otros antibióticos, así como actividad contra bacterias anaerobias Gram positivas (6). La actividad aparente de la fosfomicina *in vitro*, se ve influenciada considerablemente por la composición de los medios de cultivo pues está demostrado que los fosfatos, la glucosa y las sales deprimen ostensiblemente su acción. En cambio, ciertos medios simples como el caldo y agar nutritivo, resultan más adecuados para demostrar su actividad (15).
- 2.- Acción bactericida (Cuadro 1) (13).
- 3.- Ausencia de resistencia cruzada y antagonismo contra otros antibióticos.
- 4.- Sinergismo con otros antibióticos.

5.- Aumento de su actividad antibacteriana en presencia de glucosa-6-fosfato, cuando las bacterias disponen del correspondiente sistema de transporte.

6.- Es posible que tenga eficacia *in vivo* en infecciones experimentales por bacterias Gram positivas y Gram negativas, incluyendo infecciones intracelulares.

7.- Mayor actividad *in vivo* que *in vitro*. (12).

Las características farmacológicas son:

a) Ausencia de toxicidad aguda y crónica, de mutagenicidad, teratogenicidad y reacciones anafilácticas.

b) En asociación con aminoglucósidos producen reducción de la nefrotoxicidad de estos antibióticos (13).

c) La sal sódica tiene 90-100% de biodisponibilidad.

d) Por vía oral la absorción es de 30-40%.

e) Ausencia de fijación a las proteínas del plasma.

f) Elevada difusión a tejidos y líquidos orgánicos.

g) Excreción renal por filtración glomerular alcanzando altas concentraciones del antibiótico en la orina, incluso por vía oral.

h) Ausencia de transformaciones metabólicas (12).

Se ha comentado que la fosfomicina es un valioso antibiótico y el único en su clase. Ninguna otra molécula conocida reúne la novedad y sencillez de su estructura y sus notables propiedades antibióticas y farmacológicas (12).

La fosfomicina exhibe propiedades antibióticas que abren nuevas perspectivas a su aplicación terapéutica. Su acción antinefrotóxica es especialmente interesante

ya que se observa con fármacos tan distintos e importantes como los aminoglucósidos (12).

La fosfomicina no se une a las proteínas séricas, además posee un buen volumen de distribución en el hombre y alcanza altas concentraciones en compartimentos profundos. No se metaboliza y se excreta sin cambios por filtración glomerular originando altas concentraciones en orina (8,13).

En el hombre se han determinado las concentraciones séricas contra tiempo; en el cuadro dos se listan los niveles de fosfomicina sérica via intravenosa (12).

La fosfomicina penetra a compartimentos profundos y se ha estimado un volumen de distribución de $20 \text{ V}1.73 \text{ m}^2$ de superficie corporel. Relacionando el peso corporal con este valor (70 kg), el volumen de distribución es aproximadamente del 30%. De tal suerte se puede inferir que la fosfomicina penetra dentro de los espacios intersticial y parte del intracelular (12).

La vida media sérica de eliminación es de 1.5 a 2.0 horas. La fosfomicina es libremente soluble en agua y estable dentro de rangos de pH de 4 a 11, con pH óptimo es de 6.2 (12).

Dado que ya existen presentaciones farmacéuticas de fosfomicina para becerros en el mercado nacional (FX Plus), se consideró necesario obtener los valores farmacocinéticos más importantes del fármaco. Ésto se llevó a cabo a partir de la obtención de los siguientes parámetros farmacocinéticos (17):

- Concentración máxima lograda (C_{po}): Cantidad máxima de fármaco alcanzada en el plasma.
- Área bajo la curva (ABC): Herramienta de biodisponibilidad que en la concentración plasmática-tiempo es útil para medir la ocupancia, el tiempo durante el cuál es ocupado determinado volumen de plasma por el fármaco.

- Primer momento del área bajo la curva (MABC): Primer valor detectado en la curva de concentración plasmática-tiempo en el que el fármaco ocupa un determinado volumen de plasma.
- Vida media plasmática ($T_{1/2}$): Tiempo necesario para que se reduzca en un 50% la concentración del fármaco en el plasma.
- Volumen de distribución central ($V_d c$): Cantidad de fluido extraplasmático necesario para diluir el medicamento a la misma concentración que la existente en el plasma.
- Volumen de distribución por área ($V_d \text{ área}$): Volumen de líquido necesario para contener la cantidad de fármaco en el cuerpo si fuera distribuido uniformemente a una concentración igual a la que existe en el plasma.
- Volumen de distribución estable (V_{des}): Cantidad de fluido que permanecerá estable durante la aplicación constante del fármaco a un intervalo de dosificación determinado.
- Determinación del número de compartimientos (1 ó 2) para poder conocer la distribución, el movimiento y el equilibrio que tiene un fármaco dentro del organismo. Puede ser un modelo abierto de un compartimiento en el que el organismo se considera como un solo cuerpo sin barreras internas y el fármaco se distribuye casi inmediatamente en todo el organismo. También existen otros modelos similares al anterior, en los que se considera al organismo como un cuerpo con entidad central (plasma) y otra periférica (extraplasmática), y en este caso la eliminación va a ser a partir del compartimiento central e inmediatamente se establecerá un equilibrio con la periferia.
- Determinación del tipo de cinética al intervalo de dosificación utilizado (de orden 0 ó de 1er. orden) para conocer el desplazamiento del fármaco. Puede ser por una cinética de primer orden en donde el medicamento pasará de un lado a otro de la membrana en función de la cantidad del fármaco en un compartimiento.

También puede ser por una cinética de orden cero en la que hay una participación de un sistema enzimático o de transporte saturable, y la eliminación no se incrementa al aumentar la concentración, una vez que el sistema enzimático o de transporte se ha saturado.

- **Tangente de distribución-eliminación (β):** Constante aparente de distribución total y de velocidad de eliminación total del fármaco.
- **Depuración total o corporal del organismo (Cl_R):** Cantidad de sangre que queda libre del fármaco por varias vías en una unidad de tiempo (2, 17).

Además de la relación de estos procesos con la intensidad y duración de los efectos característicos de un fármaco, la farmacocinética nos ayuda a conocer la dinámica de absorción, la distribución, la biotransformación y la excreción y explica las fluctuaciones plasmáticas, urinarias, histológicas, entre otras de los fármacos.

Se consideró de utilidad realizar un ensayo tendiente a definir su comportamiento farmacocinético en becerros.

OBJETIVO

Evaluar la farmacocinética sérica de la fosfomicina en becerros mediante su incorporación a un análisis compartamental.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 5 becerros en confinamiento de 90 kg de peso, que recibieron un preparado farmacéutico que contiene fosfomicina al 20% por vía intravenosa a una dosis de 10 mg/kg en forma de bolo.

Se tomaron muestras de sangre en tubos con anticoagulante (EDTA) en los siguientes tiempos: 5 min, 20 min, 30 min, 45 min y a las 1, 2, 4, 8 y 12 horas. Se obtuvieron nuevas muestras a la hora 25, 29 y 32 por punción yugular.

Las muestras de sangre se centrifugaron a 5000 rpm /10 min. El plasma se congeló a -4 °C, hasta su análisis.

Se estimaron las concentraciones plasmáticas de la fosfomicina mediante el método de difusión en placa diseñado por Bennet et al (1), que consiste en la determinación de las concentraciones sanguíneas de la fracción activa por difusión en placa y que ha sido considerado tan sensible como el High Performance Liquid Chromatography (HPLC) para moléculas similares, estandarizado con plasma de becerros y una cepa ultrasensible al fármaco de *Escherichia coli* como microorganismo prueba (3).

1) Obtención de la cepa para la prueba:

Se obtuvo del laboratorio de Microbiología y Bacteriología de la FMVZ, UNAM. Con un isótopo estéril se tomó la muestra y se sembró en una caja de petri con medio selectivo y diferencial, agar verde brillante (V.B), mediante la técnica de aislamiento en cultivo puro. La siembra se incubó a 37° C por 24 horas, el cultivo obtenido se sembró con la técnica de estria continuo incubándose a 37° C por 24 horas. De esta manera se utilizaron cultivos jóvenes de *E. coli*, siendo sembrados 24 horas antes de cada prueba.

2) Preparación del material:

Se utilizaron refractarios tipo Pyrex resistentes al calor de 22 cm X 22 cm y de 5 cm de altura, cuyo borde superior es esmerilado, sometidos a un lavado con agua y jabón. Después de secarse se desengrasaron con alcohol al 70% y posteriormente fueron sellados con dos capas de plástico de silicón (Ega- Pack), envolviéndolos en papel estrasa para su esterilización en autoclave a una temperatura de 121°C y una presión de 15 libras durante 15 minutos.

Los medios utilizados fueron agar Müller-Hinton (M-H) y caldo infusión cerebro corazón (CICC), preparados según especificaciones del producto y posteriormente esterilizados en el autoclave (121 ° C-15 lb-15 min).

3) Estandarización de la prueba:

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

a) Concentración de bacterias: Se utilizó un inóculo obtenido del cultivo joven de *E. coli* en agar V.B. y se sembró en un tubo con 4 ml de CICC, se homogeneizó y se estandarizó en el espectrofotómetro Bausch & Lomb, hasta alcanzar una lectura de 0.4 de absorbancia al utilizar un filtro para medir la longitud de onda con luz visible de 530 nm equivalente a 5×10^7 UFC/ml. De aquí se tomaron 1.6 ml (inóculo estandar) y se agregaron a 200 ml de agar M-H estéril y tibia, lo que determinó una concentración final bacteriana de 1.21×10^{11} UFC/ml.

b) Concentración del quimioterápico: El fármaco utilizado fue fosfomicina. El límite inferior de sensibilidad de detección de este método ha sido establecido en este laboratorio a 0.01 µg de fosfomicina/ ml de plasma, lo cual se hizo realizando diluciones dobles seriadas.

c) Se utilizaron 200 ml de agar M-H por refractario para toda la prueba.

4) Preparación de las placas de agar :

Una vez estériles los refractarios, se les quitó el papel y se colocaron entre dos mecheros de Bunsen, con el cuarto cerrado y evitando corrientes de aire, se destaparon y se les vació el agar M-H (200 ml/ refractario), inmediatamente después de haber agregado el inóculo estandarizado y homogeneizado. Se tapó herméticamente con el Ega- Pack. Se dejó solidificar en una superficie plana durante 1 hora aproximadamente. Una vez solidificado, se le realizaron de 20 a 25 perforaciones equidistantes una de otra de 4.4 cm con un sacabocados de 0.05 cm de diámetro, utilizando un diagrama con las posiciones de las perforaciones debajo del refractario.

Una vez realizado esto, con micropipeta se tomaron 100 μ l de cada una de las diluciones colocándolas en los pozos utilizando una puntilla diferente en cada ocasión. Se identificaron los pozos en el refractario y se incubaron a 37 ° C por 24 horas.

5) Lectura de los halos de inhibición:

Al día siguiente se midieron los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano con un calibrador (Vernier).

6) Análisis de las muestras:

Para el análisis de las muestras se utilizaron los mismos pasos que para la estandarización de la prueba anteriormente descrita, con la diferencia de que en lugar de utilizar diluciones del fármaco, se aplicaron directamente 100 μ l de los sueros obtenidos de las muestras los cuales se incubaron y leyeron a las 24 horas.

7) Determinación de la cinética del quimioterapéutico:

Las variables farmacocinéticas (cuadro 3) se calcularon utilizando modelos compartamentales y un programa de computación R-Strip con las fórmulas siguientes:

Volumen de distribución aparente del compartimiento central

$$Vd_c = \frac{\text{Dosis IV}}{C_{PO}}$$

Volumen de distribución aparente (área)

$$Vd \text{ área} = \text{Dosis IV} / AUC \cdot \beta$$

Volumen de distribución aparente en el estado estable

$$Vd_{ss} = \text{Dosis} \cdot AUMC / AUC^2$$

Depuración sistémica

$$Cl_s = \text{Dosis IV} / AU$$

Concentración de fosfomicina al tiempo cero, $Cp_0 = A+B$

donde A= Concentración de fosfomicina al tiempo cero extrapolada por linealización de residuales y B= concentración de la fase terminal.

$$K_{21} = A \beta + B \alpha / A + B$$

$$K_{10} = \alpha \cdot \beta / K_{21}$$

$$K_{12} = \alpha + \beta - K_{21} - K_{10}$$

$$Vd_c = \frac{\text{dosis IV}}{Cp_0}$$

$$Cp_0$$

$$Cp_0 = A + B$$

$$Vd_{\text{área}} = \text{Dosis IV}$$

$$Cl = \text{Dosis IV} / AU$$

$$Vd_{ss} = \text{Dosis IV} \cdot AUMC$$

MicroMath Scientific Software, Salt Lake City, Utah (1993).

Las variables fueron estimadas considerando un modelo de dos compartimientos abiertos conforme a la cinética demostrada por compuestos similares y cuyo modelo se presenta en la figura 2 (1,10).

De la información resultante se establecieron las predicciones siguientes:

- Tiempo de espera para el sacrificio
- Distribución de la fosfomicina a tejidos y utilidad contra septicemias
- Velocidad de eliminación del fármaco
- Dosis mínima y máxima
- Posibilidad de que se acumule o no en tejidos
- Concentraciones máximas en el plasma
- Duración del tratamiento

RESULTADOS

Se llevaron a cabo un total de 55 determinaciones de la concentración de fosfomicina en los tiempos señalados. En el cuadro 4 se muestran las concentraciones plasmáticas a distintos tiempos de su aplicación en los 5 becerros puestos a prueba, en donde podemos observar una concentración máxima de fosfomicina de 65 $\mu\text{g/ml}$ de plasma a los 5 minutos y una concentración mínima de 0.3 $\mu\text{g/ml}$ a las 12 horas postaplicación. Las concentraciones plasmáticas fueron determinadas a partir de la regresión lineal de la concentración de fosfomicina (obtenida a partir de diluciones doble seriadas) contra el halo de inhibición expresado en cm., donde obtuvimos una zona de inhibición (halo) de 3.5 cm de diámetro que corresponde en la gráfica a una concentración de 70 $\mu\text{g/ml}$ de fosfomicina en plasma como máxima y 0.01 $\mu\text{g/ml}$ correspondiente a una zona de inhibición de 1.45 cm. La regresión lineal presentó un coeficiente de correlación superior al 95 %, concluyendo que los límites de detección confiables fluctúan entre 0.01 y 70 $\mu\text{g/ml}$ utilizando una cepa de *E coli* altamente sensible a la fosfomicina (Figura 3).

En la figura 4 se se expresan los valores obtenidos de los niveles plasmáticos de fosfomicina (cuadro 4) de manera semilogarítmica en la que podemos apreciar que se ajusta mejor a un modelo de dos compartimientos así como la vida media y el ángulo de eliminación de la fase de postdistribución.

En la figura 5 observamos las concentraciones plasmáticas medias y desviaciones estandar de fosfomicina en becerros después de su aplicación intravenosa.

DISCUSIÓN

La técnica de Bennet *et al* de difusión en placa permite la determinación de la fracción activa del antimicrobiano a determinar. En el caso particular de la fosfomicina, esta técnica resulta particularmente útil, ya que se sabe que la fosfomicina es más activa *in vivo* (1) y por lo tanto se refleja de mejor forma su potencial y actividad biológica. Es importante señalar que aunque se ha descrito en buena medida el mecanismo de acción (4,7), aún se desconocen muchas de las facetas de su actividad dentro del organismo, lo que quizá explique en parte el hallazgo de halos de inhibición notablemente superiores a la concentración que debería corresponder a ciertos tiempos. Ésto es, se obtuvieron de manera aparentemente desordenados halos de inhibición que pudieran sugerir " la actividad de la fosfomicina ". Esta observación de alguna manera concuerda con la descripción de que su actividad es mayor *in vivo* y de que ciertos metabolitos intermediarios como la glucosa-6-fosfato pueden activar su ingreso a la bacteria, mientras que concentraciones superiores de glucosa inhiben su acción (12). Desde esta perspectiva sería útil llevar a cabo estudios adicionales en diversos medios de cultivo desprovistos de glucosa ó bien cuantificando la cantidad de glucosa en plasma.

Las variables farmacocinéticas obtenidas indican una biodisponibilidad potencialmente elevada al se consideran los valores de AUC y AUMC (véase cuadro 5). El volumen de distribución central fue de 0.22 l/kg, lo que refleja una distribución limitada al inicio o inmediatamente después de la administración intravenosa pero, dado que la cinética fue de dos compartimientos (véase figura 4) se presenta una fase rápida de distribución que mejora posteriormente su volumen de distribución área (AUC) hasta un valor de 0.289 l/kg, que puede describirse como moderado. Si se toma como punto de equilibrio el momento en que termina la fase de distribución y empieza la fase de posdistribución, se puede aplicar la fórmula de Volumen de Distribución Simple:

$$VD = \text{Dosis total} = 700\,000\ \mu\text{g} = 20\,000\ \text{ml} = 20\ \text{l}$$

[] plasmática 35 $\mu\text{g/ml}$
al equilibrio

El valor de 20 l Indicará una distribución a espacio intersticial principalmente y moderadamente a espacio celular, Ésto concuerda con lo observado en seres humanos, en los que se ha descrito una distribución similar (12).

De acuerdo con el valor de vida media en la fase de posdistribución se requieren 16.5 horas para la eliminación del 99.975% del medicamento y, de acuerdo con lo descrito en la literatura se requieren 33 horas como periodo de retiro al rastro (16). Aunque sería importante determinar por cromatografía de alta resolución la existencia de metabolitos inactivos de persistencia prolongada, ó bien utilizando marcadores radioactivos. La rápida eliminación del medicamento concuerda con una rápida depuración de 6.6 l/m/kg y con la dominancia de K_{21} . No es posible determinar un intervalo de dosificación con los datos obtenidos ya que se requerirán estudios de CMI con fosfomicina activada en plasma. Sin embargo, por su rápida eliminación es evidente que si se quieren mantener concentraciones plasmáticas superiores a 1 $\mu\text{g/ml}$, el intervalo de dosificación no deberá ser superior a 8 horas. Este intervalo relativamente corto desde el punto de vista de manejo puede presentar una desventaja potencial desde el punto de vista mercadotécnico.

Dadas las características de la activación de la fosfomicina en plasma y en virtud del perfil cinético obtenido sería de interés realizar ensayos clínicos controlados para definir su potencial terapéutico en becerros; en particular sería de utilidad determinar su actividad en tejido pulmonar.

LITERATURA CITADA

- 1.- Bennet, J. B., Brodie, J.L., Benner, E. J., Kirby, W. M.: Simplified accurate method for antibiotic assay. Clinical specimens. *Am. Soc. of Microbiology*, 14:170-177. (1966).
- 2.- Booth, N. H., Mc-Donald, L. E.: *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. Vol. I y II. Editorial Acribia, S.A. España 1986.
- 3.- Clark, H. N., Braun, K., Wallas, J., Turck, M.: Evaluation of fosfonomycin, a new cell wall active antibiotic. *Antimic- Agents Chemoth.* 40 (3): 336-342. (1969).
- 4.- Gobernado M., Santos, M., Paz M.L., Román, J., Mascarós, E. E.: Five years experience with fosfomicin in a Spanish hospital. Bacteriological and clinical results. *Current Chemother ASM.* 28 (5): 7-679. (1978).
- 5.- Gutiérrez, C.B., Piriz, S., Rodríguez-Ferri, E.F.: *In vitro* susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains to 42 antimicrobial agents. *Am. J. of Vet. Res.* : 5 (4) 548-550. (1993).
- 6.- Hendlin, D., Frost, B. M., Thiele, E., Kroop, H., Valiant, M. E., Pelek, B., Weissberger, B., Comin, C., Miller, A. K.: Evaluation *in vitro*. *Antimic. Agents Chemoth.* 37 (8): 297-302. (1969).
- 7.- Kestle, D. G., Kirby, W. M.: Clinical Pharmacology and *in vitro* activity of fosfonomycin. *Antimic. Agents. Chemoth.* 16 (6): 332-337. (1969).
- 8.- Kwan, K. C., Wadke, D. A., Foltz, E. L.: Pharmacokinetics of fosfonomycin in man. *J. of Pharmacology Sci.* 60 (3): 678-685. (1969).
- 9.- Lestra, C. F., Marino, E.L., Domínguez-Gil, A.: Fosfonomycin levels in serum and interstitial tissue fluid in a multiple dosage regimen in rabbits. *Arzneim Forsch (Arzneimittel-Forschung)*. 37(8): 927-929. (1987).
- 10.- Prescott, J. F., Baggot, J. D.: *Terapéutica Antimicrobiana Veterinaria*. Editorial Acribia. Zaragoza España, 1991.
- 11.- Priz, S., Cuenca, R.; Valle, G., Vadillo, S.: Susceptibilities of anaerobic bacteria isolated from animals with ovine foot rot to 28 antimicrobial agents. *Antimic. Agents and Chemoth.* 36(9):198-201.(1992).

- 12.- Reynal, J. L., García, S. R., Gutiérrez, Y.: Suplemento de las memorias del simposium interacional de fosfomicina. 7 y 8 de marzo de 1986 Diciembre 1986 Vol 2 No. 4. Revista de la asociación de medicina interna.
- 13.- Rodríguez, A., Mata J.: La fosfomicina, un nuevo antibiótico bactericida. *La vie medicale*. 16 (48): 1-7. (1974)
- 14.- Rosenstein, E: Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Ediciones PLM, S.A. de C.V., 38 edición, México (1992).
- 15.- Stapley, E. O., Hendlin, D., Mata, J. M., Jackson, H., Wallick, S, Hernández, S, Mochales, S., Currie, S; Miller, R. M.: Phosphonomycin Y. Discovery and *in vitro* biological characterization. *Antimic. Agents Chemoth.* 19 (5): 284-290. (1969).
- 16.- Sumano, L. H., Ocampo, L. C.: Bases farmacológicas de la vigilancia de residuos de fármacos en productos de origen animal. *Vet. Mex.* 26 (3): 175-182. (1995).
- 17.- Sumano, L. H., Ocampo, L. C.: Farmacología Veterinaria. Mc. Graw Hill. México, 1992.
- 18.- Xiong, Y. Q., Potel, G., Cailan, J., Stephant, G.; Jehl, F., Bugnon, D., Le Conte, P., Baron, D.; Drugeon, H.: Comparative efficacies of ciprofloxacin and pefloxacin alone or in combination with fosfomicin in experimental endocarditis induced by multidrug-suceptible and resistant *Pseudomona aureoginosa*. *Antimic. Agents and Chemoth.* 39(2): 486-490. (1995).

Cuadro 1. Acción bactericida de la fosfomicina

	Cepas sensibles
<i>Staphylococcus spp</i> (incluyendo las cepas penicilín-resistentes)	97 %
<i>Streptococcus spp</i> (incluyendo hemolítico, viridans, faecalis y pneumoniae)	80 %
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	100 %
<i>Neisseria meningitidis</i>	100 %
<i>E. Coli</i>	91 %
<i>Proteus mirabilis</i>	97 %
<i>Serratia marcescens</i>	100 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	80 %
<i>Klebsiella-Enterobacter</i>	25 %
<i>Salmonella-Shigella</i>	100 %
<i>Haemophilus influenzae</i>	100 %
<i>Vibrio cholerae</i>	100 %

* Notas del simposium internacional de fosfomicina (12).

Cuadro 2. Niveles de fosfomicina sérica. Administración intravenosa en humanos

Dosis	n	t/min	mg/ml	Autor
2 g / 3 min	5	15	155 = 32	Kolb et al (1987)
		30	102 = 12	
		45	80 = 7	
		60	87 = 11	
		90	51 = 9	
		120	37 = 5	
		240	17 = 6	
		480	8 = 2.5 4.8 = 1.7	
4 g / 5-10 min	12	30	200 = 73	Müller O. (1978)
		60	159 = 62	
		120	102 = 39	
		240	61 = 35	
4 g / 30 min	4	30	195 = 253	Kirby W. M. M. (1977)
5 g / 30 min	11	48	420	Adam D. et al. (1981)
		6.4	24	
5 g / 3 min	20	3	373	Vomel W. et al (1981)
5 g / 33 min		33	217	
5 g	26	0.5 h	283 ± 14	Federspil P. et al (1982)
		1.0 h	189 ± 66	
		1.5 h	110 ± 2	
		1.75 h	123 ± 10	
		2.0 h	124 ± 14	
		2.75 h	59 ± 2	
		6.0 h	23	

Cuadro 3. Variables farmacocinéticas que se determinaron para la fosfomicina en becerros por vía IV.

AUC($\mu\text{g h/ml}$)
AUMC($\mu\text{g h/ml}$)
V _{dc} (l/kg)
V _{d Área} (l/kg)
V _{d ss} (l/kg)
β (hr ⁻¹)
T _{1/2} β (hr)
Cl _s (ml/min/kg)
Cp ₀ ($\mu\text{g/ml}$)
K ₁₂ (hr ⁻¹)
K ₂₁ (hr ⁻¹)
K ₁₀ (hr ⁻¹)

AUC= área bajo la curva por integral trapezoidal.

AUMC= área bajo la curva-momento.

V_{dc}= volumen de distribución aparente del compartimiento central.

V_{d Área}= volumen de distribución aparente de la fase postdistribución.

V_{dss}= volumen de distribución aparente de la fase estable.

β = constantes de distribución y postdistribución respectivamente.

B= extrapolación a cero de la fase de postdistribución

T_{1/2} β = vida media de la fase de postdistribución

Cl_s= depuración durante el estado estable

Cp₀= concentración máxima plasmática extrapolada al momento cero

K₁₂= constante de difusión del compartimiento central al periférico

K₂₁= constante de redistribución del compartimiento periférico al central

K₁₀= constante de eliminación

Cuadro 4. Niveles plasmáticos de fosfomicina ($\mu\text{g/ml}$) en becerros postadministración vía intravenosa 10 mg/kg en forma de bolo.

1	2	3	4	5	$\bar{x} \pm \text{DE}$
61	60	67	65	71	66 ± 6
62	60	49	60	61	64 ± 6
34	30	38	35	32	34 ± 4
28	30	34	29	31	30 ± 4
12	17	14	18	16	16 ± 6
5	7	6	9	8	7 ± 2
1.6	2	2.1	2.03	1.9	2 ± 0.04
0.3	0.29	0.4	0.2	0.1	0.3 ± 0.1

Cuadro 5. Variables farmacocinéticas obtenidas para fosfomicina aplicada a becerros vía intravenosa a una dosis de 10 mg/kg.

AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$)	107.88 \pm 32
AUMC ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$)	249.14 \pm 62
Vdc(l/kg)	0.22 \pm 0.045
Vd área(l/kg)	0.289 \pm 0.045
Vdss(l/kg)	4.62 \pm 1.23
β (hr^{-1})	0.418 \pm 0.04
T $\frac{1}{2}$ β (hr)	1.65 \pm 0.035
Cl _s (ml/min/kg)	6.6 \pm 1.5
Cp ₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	45 \pm 3.5
K ₁₂ (hr^{-1})	1.8 \pm 0.4
K ₂₁ (hr^{-1})	2.02 \pm 0.6
K ₁₀ (hr^{-1})	0.66 \pm 0.09

AUC= área bajo la curva; AUMC= momento-área bajo la curva; Vdc= volumen de distribución central; Vd área= volumen de distribución aparente de la fase de predistribución; Vdss= volumen de distribución en el estado estable; ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$) α y β = constantes de distribución y predistribución; T $\frac{1}{2}$ β = vida media de la fase de predistribución; Cl_s = depuración sanguínea; Cp₀ = concentración plasmática máxima en el momento cero; B= extrapolación al tiempo cero de la fase de eliminación o de predistribución; K₁₂ = constante de difusión fuera del compartimento central; K₂₁ = constante de difusión del compartimento periférico al central; K₁₀ = constante de eliminación.

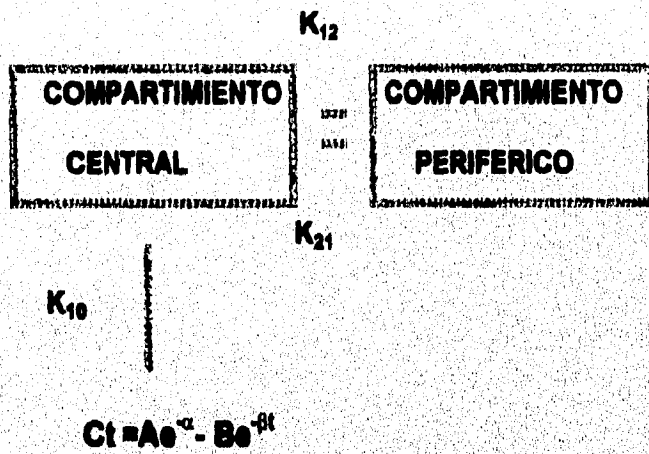


Figura 2. Modelo de dos compartimentos abiertos.

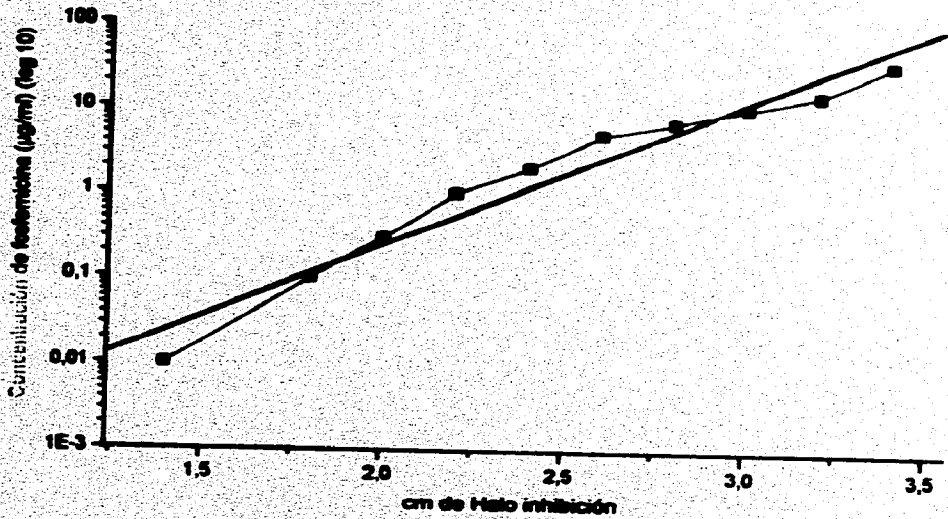


Figura 3 Regresión lineal de la concentración de fosfomicina contra halo de inhibición

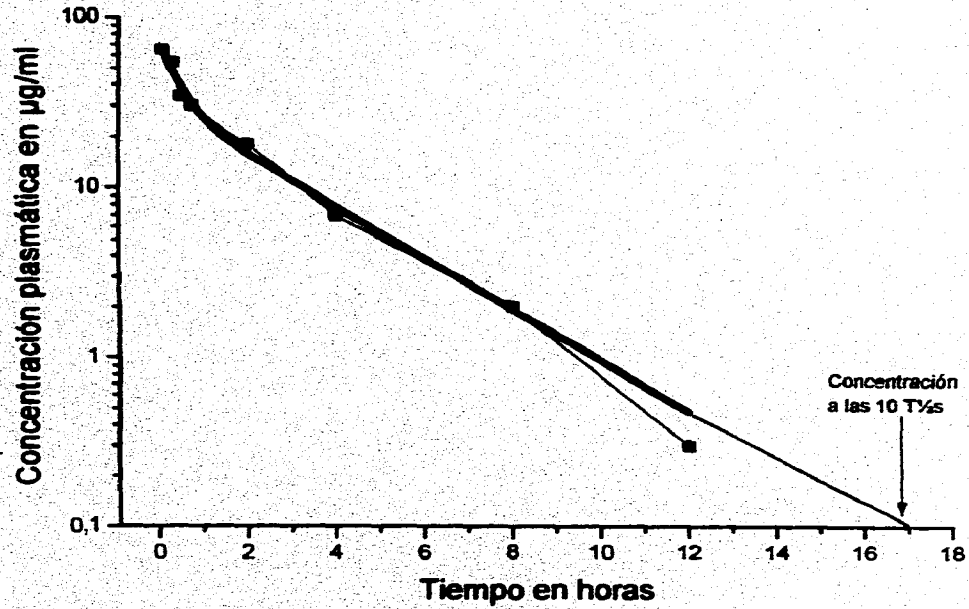


Figura 4. Relación semilogarítmica de la concentración plasmática de fosfomicina en el tiempo

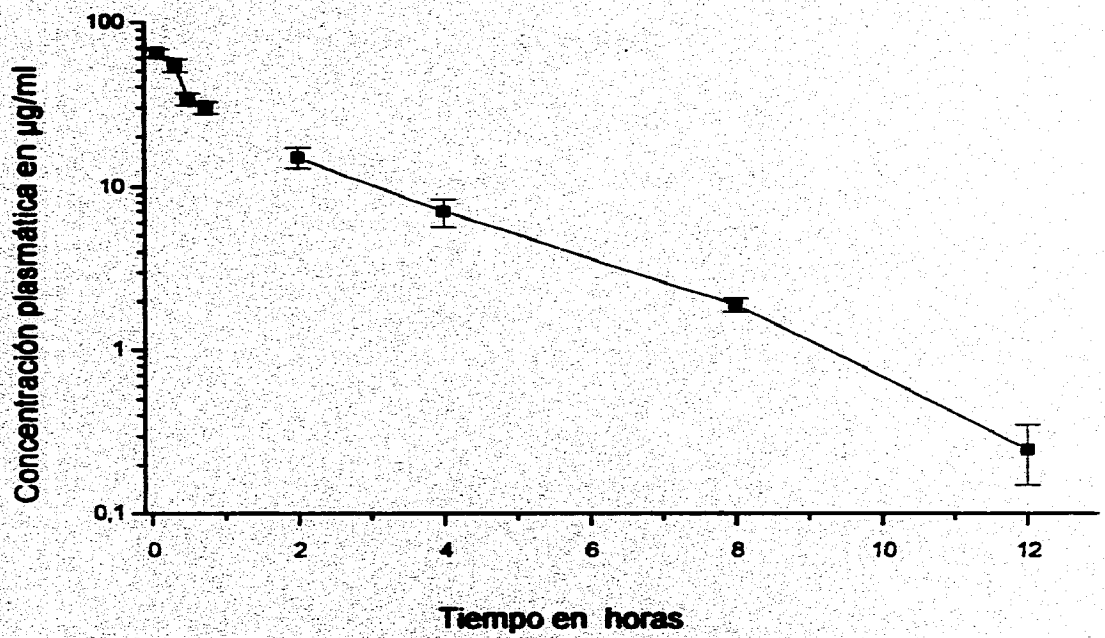


Figura 5. Concentraciones plasmáticas medias y desviaciones estándar de fosfomicina en becerros, después de la aplicación intravenosa.