

187
Zij



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

ASPECTOS FARMACOCINETICOS DE LA
GENTAMICINA EN POLLO DE ENGORDA

T E S I S
Que para obtener el titulo de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
p r e s e n t a

MARCO AURELIO REBOLLO FRANCO

Asesores: M.V.Z. Héctor Sumano López
M.V.Z. Lilia Ana Páez García



México, D. F.

1989

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

C O N T E N I D O

RESUMEN- - - - - i

INTRODUCCION- - - - - ii

MATERIAL Y METODOS- - - - - iv

RESULTADOS- - - - - viii

DISCUSION- - - - - xvi

LITERATURA CITADA- - - - - xviii

1

**ASPECTOS FARMACOCINÉTICOS DE LA GENTAMICINA
EN POLLO DE ENGORDA**

RESUMEN.

Se realizó un estudio farmacocinético de gentamicina, para el cual se utilizaron 60 pollos de 5 semanas de edad divididos en 2 grupos: Uno de 24 para la vía endovenosa y otro de 36 para la vía intramuscular. Se les inyectó gentamicina a una dosis de 7 mg/Kg de peso y se les sangró en diferentes intervalos posteriores a dicha inyección: 10, 20, 40, 80, 160, 320 y 640 minutos para la vía endovenosa y 1/4, 1/2, 1, 2, 4, 8, 16, 24 y 48 horas para la vía intramuscular; se obtuvieron los sueros y se procesaron por un método microbiológico de valoración antimicrobiana con el fin de conocer la concentración del antibiótico. El método microbiológico de valoración antimicrobiana se tuvo que estandarizar previamente utilizando diferentes concentraciones conocidas del antibiótico en cuestión, obteniendo diámetros de halos de inhibición del crecimiento bacteriano correspondientes a cada concentración. Posteriormente se construyó una gráfica poniendo concentraciones contra diámetros, se obtuvieron los puntos y se unieron con una línea recta. Tal línea sirvió para predecir las concentraciones del antibiótico, a partir de halos de inhibición conocidos, para cada intervalo postinyección.

Se construyó una gráfica de dos compartimentos para la vía endovenosa, poniendo tiempos de sangrado contra concentraciones del antibiótico y por métodos gráficos y matemáticos se obtuvieron los diferentes aspectos farmacocinéticos. Se construyó una gráfica similar para la vía intramuscular y se apreció su similitud con la anterior.

En los valores cinéticos obtenidos se aprecia: una distribución notablemente rápida, una tendencia a fijarse en los tejidos, una prolongada vida media y un eficiente volumen de distribución. Se puede afirmar, que la dosificación de gentamicina por vía intramuscular, puede ser útil por mas de 16 horas y en caso de bacterias sensibles por mas de 48 horas; Su uso no es recomendado en el caso de septicemias, y no se aconseja el consumo de aves inyectadas en un lapso menor a 72 horas posteriores a la inyección.

INTRODUCCION.

Uno de los recursos antibióticos utilizado en la clinica de la mayoría de la especies incluyendo al hombre es la gentamicina (3,9,18). La cinética de este medicamento está ya definida para la mayoría de las especies (3,5,8,12,13,15,16,17). Sin embargo, en pollo de engorda no se han establecido con precisión los valores cinéticos habituales. Existe información en palomas (10,17), aves de presa (2) y otras aves silvestres (4) y las diferencias entre los valores obtenidos son notables. Por ejemplo, la vida media de la gentamicina en el gavián es de 1.35 ± 0.18 horas, mientras que en el águila llega hasta 2.46 ± 0.32 horas (4). Considerando que la extrapolación de datos conduce a errores en la dosificación y el éxito del tratamiento, resulta congruente pensar que es necesaria la definición de la cinética de este medicamento en el pollo de engorda.

Los aminoglicósidos en general y la gentamicina en particular, no han sido aprobados por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos para su uso en animales de abasto (18) y quizá esta sea una de la razones por las que no se ha estudiado su cinética en pollos y si en otras aves.

Desde el punto de vista clínico los aminoglicósidos pueden ser muy eficaces para el tratamiento de patologías causadas principalmente por bacterias Gram negativas (3,9,18); sin embargo, se desconoce el tiempo en que se elimina del organismo de las aves (18). Empero, en la práctica clínica se reconoce que la gentamicina es una magnífica opción para las enfermedades detalladas en el cuadro No.1.

Es evidente que los organismos encargados de permitir el uso de la gentamicina en aves han visto con buenos ojos su uso en función de la cantidad de presentaciones comerciales que de esta existen (vease cuadro No.1). Sin embargo, no se sabe el tiempo que se requiere esperar para enviar a los animales al rastro. Por esta razón y las ya expuestas resulta necesario llevar a cabo un estudio cinético que permita definir el correcto uso de la gentamicina en pollo de engorda.

CUADRO No. 1 (7).

<u>PRINCIPIO ACTIVO</u>	<u>PRODUCTOS</u>	<u>INDICACIONES</u>
GENTAMICINA	GENTA 5 KALVET	SALMONELOSIS,
	GENTAMISOL-AVICOLA	COLIBACILOSIS,
	AVIGEN	ESTAFILOCOCCOSIS,
	GENTAMICIN	ESTREPTOCOCCOSIS,
	GENTAMICIN-VROT	MICOPLASMOSIS,
	GENTAMICINA-PROVENA	PSEUDOMONIASIS Y OTRA
		AMPLIA VARIEDAD DE
		BACTERIAS GRAM NEGATIVAS
		Y GRAM POSITIVAS

La gentamicina como todos los demás aminoglicósidos es un agente antimicrobiano mas activo en pH alcalino, es hidrosoluble, es de

acción bactericida, su espectro es contra bacterias Gram negativas y algunas Gram positivas mostrandose mas marcado contra enterobacterias, Su farmacodinamia consiste en la inhibición de la síntesis de proteínas, actuando sobre la subunidad ribosomal 30 S, presenta baja afinidad por unirse a proteínas plasmáticas y su eliminación se da principalmente por el riñón y vesícula biliar. La gentamicina es un antibiótico obtenido a partir del hongo Micospolipora purpurea y de entre los aminoglicósidos se distingue por ser el de mayor espectro y su toxicidad orientarse mas al riñón que al oído y músculos(3,9,18).

HIPOTESIS.

la farmacocinética de la gentamicina en pollo de engorda difiere de la descrita para otras especies.

OBJETIVO.

Llevar a cabo un estudio cinético de la gentamicina en pollos de engorda.

MATERIAL Y METODOS.

El experimento consta de dos fases fundamentales:

A. CONSTRUCCION DE UNA CURVA DE CALIBRACION

Se siguió el procedimiento establecido por Bennet et. al. (1), modificado de acuerdo a material y equipo existente en nuestro país.*

* Método modificado, Laboratorios Avi-max S.A. de C.V.

a) Preparación y limpieza de la placa.

Se utiliza una placa de vidrio resistente al calor de 20 x 20 cm y 5 cm de altura, la cual posee una tapa esmerilada. Se limpia la placa haciendo un primer lavado con alcohol-acetona y se flamea

La placa de vidrio se une en su borde superior con la tapa de vidrio esmerilada, utilizando para ello resina epóxica o silicón; se envuelve en papel estaño y se esteriliza por lo menos 24 horas antes de usarse.

b) Preparación del agar base.

Se preparan 200 ml de agar Muller-Hinton estéril y se vacían en la placa de vidrio sobre una superficie totalmente plana. Una vez solidificado el agar, se tapa la placa colocando silicón estéril entre el borde de esta y la tapa; de tal forma que cierre herméticamente. Se incuba en la estufa durante 24 horas a 37 grados centígrados para que se compruebe que está libre de gérmenes patógenos o apatógenos y pase así la prueba de pureza.

c) Preparación del germen de prueba e inoculación del agar.

Se utiliza una cepa patógena de Escherichia coli positiva a la prueba de colicina, con capacidad de causar mortalidad en pollos de 2 semanas de edad, en un lapso de 8 horas postinoculación.

La bacteria se resiembró 24 horas antes de su uso en tubos inclinados de Agar Infusión Cerebro Corazón, para obtener bacterias viables el día de la preparación del agar inoculado. Una vez obtenido el crecimiento se lava con 5 ml de solución salina fisiológica estéril. Posteriormente se hacen las diluciones bacterianas de la siguiente manera: en unos tubos se colocan 2.6 ml de solución salina

fisiológica y se añade una cantidad determinada de lavado de bacterias que generalmente es de 0.2, 0.3, ó 0.4 ml y se agitan perfectamente.

Conjuntamente se utiliza un espectrofotómetro Bausch & Lomb a 530 nm de longitud de onda de luz visible; se introduce una cubeta con solución salina fisiológica (cubeta blanco) para ajustar la lectura a un 100% de transmitancia; se quita la cubeta blanco y se colocan otras cubetas que contienen las diluciones bacterianas hechas previamente para escoger aquella que nos dé una lectura del 25% de transmitancia (11).

En un matraz Erlenmeyer se preparan 100 ml de Agar Infusión Cerebro Corazón y se deja enfriar a temperatura de mejilla. Una vez que se cumpla este requisito se toman con una pipeta serológica estéril 5 ml de la suspensión bacteriana ajustada para ser agregada a ese matraz; se debe homogenizar perfectamente con el medio; hecho esto se vacía y extiende sobre toda la superficie del agar base y se deja solidificar.

d) Colocación y llenado de los penicilindros.

Sobre la superficie del agar inoculado se colocan con pinzas estériles 20 penicilindros que deben estar equidistantes 3 cm uno de otro, para que no haya intersecciones entre los halos de inhibición al realizar la lectura. Utilizando una micropipeta se llena cada uno con 250 microlitros de las soluciones o de los sueros sanguíneos tomados de las aves a los cuales haya que analizar.

e) Soluciones estandar de gentamicina.

A partir de una preparación farmacéutica que contiene 7.5 g/l de gentamicina, se obtienen por medio de diluciones, las siguientes concentraciones: 1,3,7 y 10 microgramos por mililitro (6), para lo cual se usan matraces volumétricos de 10 ml, una micropipeta y una solución Buffer de fosfatos estéril.

Las 4 soluciones preparadas servirán para llenar 20 penicilindros por concentración, obtener un promedio y así construir la curva de calibración (Figura No. 1).

f) Lectura y determinación de las concentraciones.

La lectura se realiza después de 24 horas de incubación a 37 grados centígrados, midiendo con un vernier el diámetro de los halos o zonas de inhibición del crecimiento bacteriano.

Una vez que los diámetros de las zonas han sido medidos y las 20 replicaciones de cada uno de los 4 estándares han sido evaluadas, se saca el promedio de cada estandar; se grafican los 4 puntos en dos papeles semilogarítmicos, transcribiendo los diámetros de las zonas de inhibición contra el logaritmo de la concentración del antibiótico de cada estandar. Luego estos 4 puntos son unidos con líneas rectas.

B. DETERMINACION DE LA CINETICA DE LA GENTAMICINA.

Se utilizaron 36 pollos de engorda de 5 semanas de edad, los cuales se dividieron en grupos de 4, se inocularon por vía intramuscular con 1 ml de la preparación farmacéutica inyectable de gentamicina que contiene 7.5 g/l de principio activo, equivalente a una dosis de 7 mg/Kg de peso.

Se colectó sangre para obtener suero durante las 48 horas posteriores, en los siguientes intervalos: 1/4, 1/2, 1, 2, 4, 8, 16, 24 y 48 horas; las muestras fueron refrigeradas y se utilizaron para realizar con ellas la valoración del contenido antibiótico.

Para determinar la concentración desconocida de un antibiótico en solución o suero problema se sigue el mismo procedimiento para valorar el antibiótico y los resultados de las zonas de inhibición se traspolan a la gráfica para localizar la concentración a la que corresponde.

Utilizando 24 aves de las mismas características se les dividió en 8 grupos de 3 aves cada uno y se les inyectó una dosis de 7mg/Kg vía endovenosa por la vena radial. Las aves se sangraron a los 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, y 640 min. por grupo y la concentración de gentamicina se determinó conforme al mismo método modificado de Bennet et. al. (1). Con la graficación de las concentraciones se determinaron los valores de: C_0 = Concentración plasmática máxima, V_c =Volumen de distribución área, Cl_t = Depuración total, α = Constante híbrida de distribución, β = Constante híbrida de eliminación, $T_{1/2}$ = vida media plasmática, K_{12} = Constante de distribución, K_{21} = Constante de redistribución, K_{el} = Constante de eliminación, A = Valor extrapolado de distribución a tiempo cero y B = Valor de eliminación extrapolado a tiempo cero.

RESULTADOS.

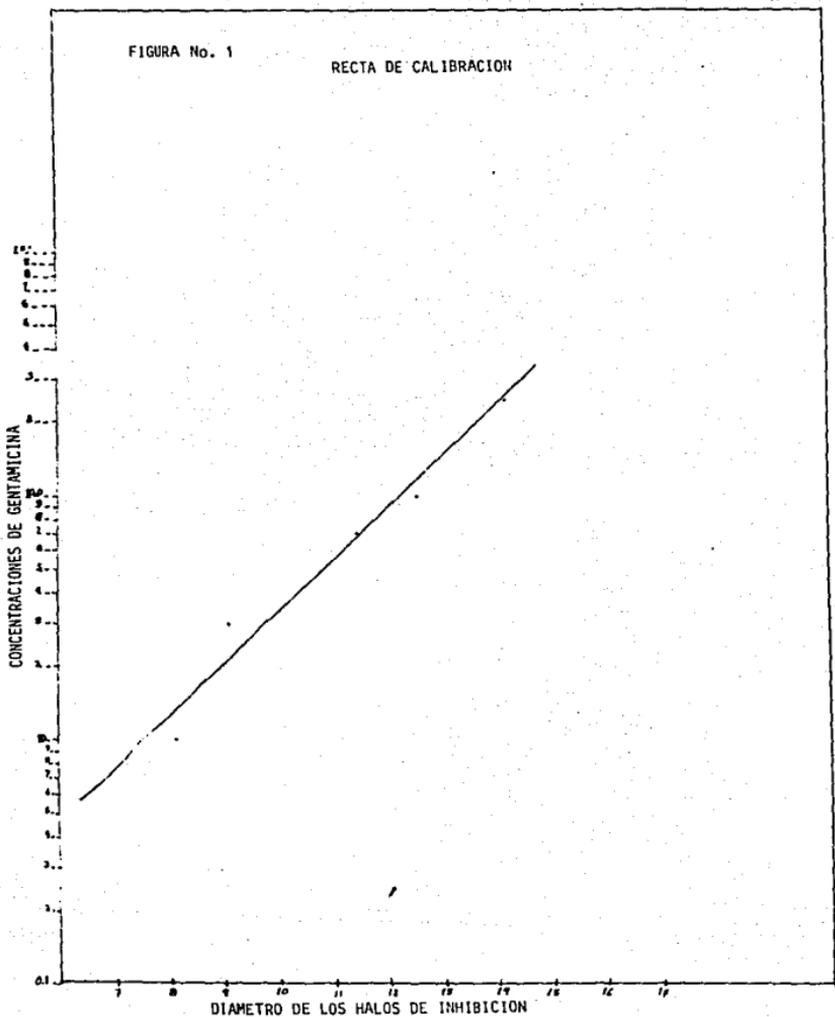
Se llevaron a cabo 60 determinaciones de la concentración de gentamicina en el plasma; 24 para la aplicación endovenosa y 36 para la aplicación intramuscular. En el cuadro 2 y figura 2 se presentan los datos de la cinética de la gentamicina por vía intramuscular,

donde se puede apreciar que la concentración máxima lograda fue de 14.10 microgramos/ml a los 30 minutos y que para las 24 horas se tuvieron niveles inferiores a 1 microgramo/ml.

En el cuadro 3 y figura 3 se presentan los datos que conforman la fase de distribución y eliminación por vía endovenosa y en el cuadro 4 se presentan los datos cinéticos de la gentamicina.

FIGURA No. 1

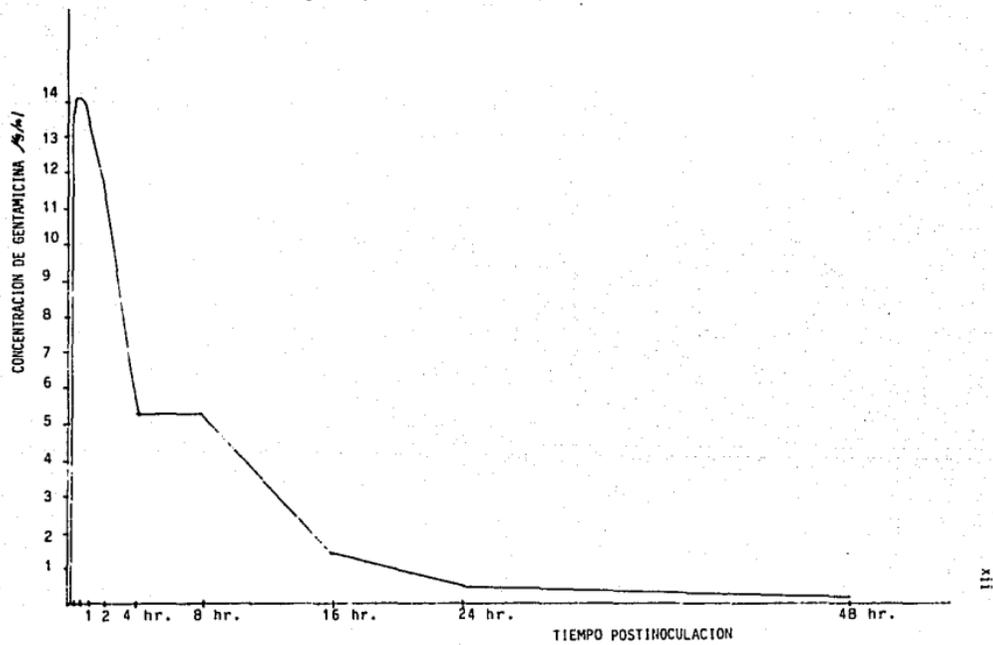
RECTA DE CALIBRACION



AVE	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	8 hr	16 hr	24 hr	48 hr
1	13.778	14.237	13.987	11.565	5.469	5.302	1.419	0.459	0.208
2	13.653	14.070	13.862	11.774	5.386	5.219	1.419	0.417	0.167
3	13.569	13.903	14.029	11.524	5.302	5.302	1.503	0.584	0.208
4	13.653	14.196	14.112	11.649	5.386	5.386	0.461	0.417	0.208
\bar{x}	13.66	14.10	13.99	11.62	5.38	5.30	1.45	1.46	0.19
DS(s)	= 0.086	0.15	0.104	0.110	0.068	0.068	0.040	0.079	0.020

CUADRO 2. Datos de los niveles plasmáticos de gentamicina en pollo de engorda después de la aplicación intramuscular de ésta a razón de 7 mg/Kg de peso.(expresado en microgramos/ml).

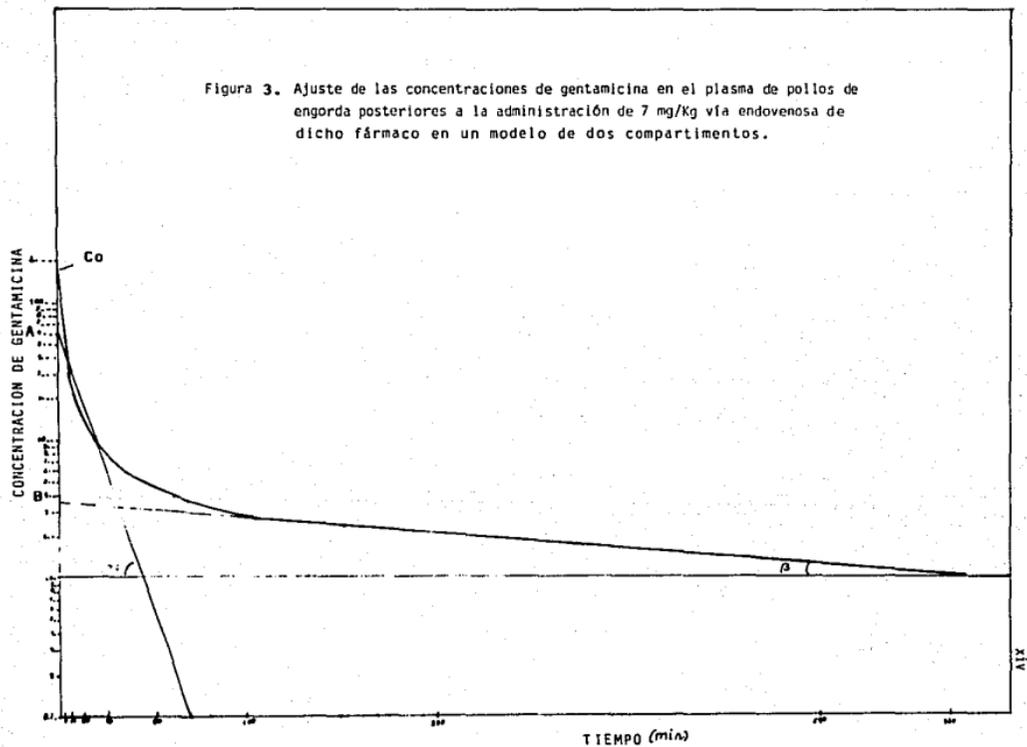
Figura 2. Concentraciones de gentamicina en el plasma de pollos de engorda posteriores a la aplicación de 7 mg/Kg vía intramuscular.



	5 min	10 min	20 min	40 min	80 min	160 min	320 min	640 min
\bar{x} =	16.283	13.736	9.144	7.265	5.803	2.672	2.254	1.210
DS(s)=	0.092	0.010	0.150	0.076	0.064	0.033	0.103	0.047

CUADRO 3. Medias y desviaciones estandar de las concentraciones plasmáticas de gentamicina después de la aplicación endovenosa de 7 mg/Kg. (expresado en microgramos/ml).

Figura 3. Ajuste de las concentraciones de gentamicina en el plasma de pollos de engorda posteriores a la administración de 7 mg/Kg vía endovenosa de dicho fármaco en un modelo de dos compartimentos.



VARIABLE	METODO	VALOR
Co= Concentración máxima extrapolada a tiempo cero	GRAFICO	165 μ /ml
Vc= Volumen de distribución del compartimento central	$Vc = \frac{\text{Dosis total I.V.}}{Co}$	0.045 l
Vd area= Volumen de distribución area (AVC)	$AVC = \frac{Co}{(A/alfa + B/beta)}$	3.7 l/Kg
CLt= Depuración total	$CLt = Vd_{AVC} \times beta$	0.161ml/min/Kg
alfa= Constante híbrida de distribución	Tangente del ángulo de distribución	1.4 h ⁻¹
beta= Constante híbrida de eliminación	Tangente del ángulo de eliminación	0.0435 h ⁻¹
T 1/2 d=Vida media de distribución	GRAFICO	12 minutos
T 1/2 e=Vida media de eliminación	GRAFICO	7 horas
K ₁₂ =Constante de distribución	$K_{12} = alfa + beta - K_{12} - Kel$	0.920 h ⁻¹
K ₂₁ =Constante de redistribución	$K_{21} = \frac{(A \times beta) + (B \times alfa)}{A + B}$	0.363 h ⁻¹
Kel= Constante de eliminación	$Kel = \frac{alfa \times beta}{K_{21}}$	0.16 h ⁻¹
A= Valor máximo de distribución extrapolado a tiempo cero	GRAFICO	60 μ /ml
B= Valor máximo de eliminación extrapolado a tiempo cero	GRAFICO	3.5 μ /ml

CUADRO 4. Valores cinéticos de la gentamicina en pollo de engorde ajustada a un modelo de 2 compartimentos.

DISCUSION.

Las desviaciones estandar que se obtuvieron tanto de la curva de recuperación como de las concentraciones plasmáticas para la determinación de la cinética intramuscular y endovenosa, permiten inferir que el método es suficientemente confiable conforme a las modificaciones hechas a lo establecido por Bennet. Sin embargo, es importante hacer énfasis en que este método es bacteriológico y por ello solo determina las concentraciones del fármaco libre. Esta propiedad se manifiesta muy probablemente en la característica cinética de dos compartimientos que mostró la gentamicina por vía endovenosa. Esto es, existe una distribución notablemente rápida con gran reducción de la concentración plasmática de fármaco libre que sugieren a su vez, una buena distribución o una elevada unión a las proteínas plasmáticas ó ambas cosas. Sin embargo los datos cinéticos obtenidos sugieren un comportamiento similar de la gentamicina al de otros aminoglicósidos; esto es, tienden a fijarse a los tejidos lo que se hace evidente con una constante de eliminación de 0.16 h^{-1} y una depuración total del organismo de apenas 0.161 ml/min/Kg . Quiza el aspecto mas notable de la cinética de la gentamicina en pollo sea su prolongada vida media en la fase de eliminación-distribución (7 horas), que comparativamente es 5.18 veces superior a la del gavián, 2.84 veces superior a la del águila y 3.58 veces superior a la del buho(4). Asimismo el volumen de distribución obtenido es notablemente superior al que se le ha calculado a otros aminoglicósidos; lo que quiza refleje la característica conocida de mejor volumen de distribución de la gentamicina por sobre otros aminoglicósidos, o bien, el secuestro del fármaco en sitios de reserva (proteínas

plasmáticas, proteínas tisulares). No obstante, en virtud de su notable eficacia clínica (7,9,18) es más factible suponer lo primero y no lo último.

Por vía intramuscular la cinética observada tiende a corroborar lo obtenido por vía endovenosa y si se considera que la concentración mínima inhibitoria de gentamicina para muchos patógenos como la Escherichia coli, Klebsiella sp. y Enterobacter sp. es inferior a 1 microgramo/ml (14), se puede afirmar que la dosificación de gentamicina puede ser útil por más de 16 horas y en caso de bacterias sensibles por más de 48 horas. A diferencia de los seres humanos (14) en los que se informa una variabilidad de la concentración plasmática de 16 a 89 veces para gentamicina, en este ensayo las variaciones entre los cuatro animales de cada grupo fueron mínimas.

Así, en función de los resultados obtenidos se puede recomendar el uso de la gentamicina para infecciones tisulares y si la gentamicina al igual que otros aminoglicósidos se elimina por vía renal, los niveles seguramente serán terapéuticos; sin embargo, sería de utilidad llevar a cabo ensayos posteriores para determinar el tiempo de eliminación de los residuos así como de las concentraciones del fármaco en diferentes fluidos corporales v.g., secreciones bronquiales, líquido sinovial, líquido cefalorraquídeo.

En este experimento se usaron las vías intramuscular y endovenosa con el propósito de obtener los aspectos farmacocinéticos de rutina; Sería recomendable realizar estudios complementarios respecto a otras vías de aplicación, tales como la subcutánea; la cual, es comúnmente usada para tratamientos de parvada; resultaría

también de utilidad estudiar el comportamiento de otros aminoglicósidos en esta especie.

LITERATURA CITADA.

1. Bennet, J.V., Brodie, J.L., Benner, E.J. and Kirby, W.M.: Simplified accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. Appl. Microbiol. 14: 170-177 (1966).
2. Bird, J.E., Miller, K.W., Larson, A.A. and Duke, G.E.: Pharmacokinetics of gentamicin in birds of prey. Am. J. Vet. Res., 44: 1245-1247 (1983).
3. Booth, N.H. and McDonald, L.D.: Veterinary pharmacology and therapeutics. 5th. ed., Iowa State Press, Iowa, 1982.
4. Bush, M., Loke, D., Neal, L.A. and Carpenter, J.W.: Gentamicin tissue concentration in various avian species following recommended dosage therapy. Am. J. Vet. Res., 42: 2114-2116 (1981).
5. Clarke, C.R., Short, C.R., Hsu, R.C. and Baggot, J.D.: Pharmacokinetics of gentamicin in the calf: Developmental changes. Am. J. Vet. Res., 46: 2461-2466 (1985).
6. Comisión Revisora Permanente de la Farmacopea Nacional: Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos, 4a. ed., Dirección General de Control de Alimentos Bebidas y Medicamentos, México D.F., 1974.
7. Gómez, J.J., Mosqueda, A. y Ocampo, L.: Terapéutica avícola, Mendoza e Hijos, México, D.F., 1987.
8. Haddad, N.S., Ravis, W.R., Pedersoli, W.M. and Carson, R.L.: Pharmacokinetics of single dose of gentamicin given by intravenous and intramuscular routes to lactating cows. Am. J. Vet. Res., 47: 808-813 (1986).
9. Katzung, B.G.: Farmacología básica y clínica, 3a. ed., El Manual Moderno, México, D.F., 1987.
10. Koster, S.J., Sabrautzki, S. und Jakoby, J.R.: (Pharmacokinetics of gentamicin in healthy pigeons and pigeons with salmonellosis) Das pharmakokinetische Verhalten von gentamycin bei der gesunden und an salmonellose erkrankten taube. Pract. tierarz., 65: 673-676, Oberschleissheim, 1984 (abstract).
11. M.P.C. Authority of the United States Pharmacopial Convention: The United States Pharmacopia. Mack Printing Company, Easton, 1985.
12. Parke, D.V.: Species differences in pharmacokinetics. Vet. Res. Commun., 7: 285-300 (1983).
13. Pedersoli, W.M., Belmonte, A.A., Purohit, R.C. and Ravis, W.R.: Pharmacokinetics of gentamicin in the horse. Am. J. Vet. Res., 41: 351-354 (1980).

14. Pratt, W.B. and Fakety, R.: The antimicrobial drugs, Pg.167, Oxford University Press, New York-Oxford, 1986.
15. Riviere, J.E. and Coppoc G.L.: Pharmacokinetics of gentamicin in the juvenile dog. Am. J. Vet. Res., 42: 1621-1623 (1981).
16. Rioud, J.L., Dix, L.P. and Riviere, J.E.: Influence of thyroid function on the pharmacokinetics of gentamicin in pigs. Am. J. Vet. Res., 47: 2141-2145 (1986).
17. Sabrautzki, S., Hartwich, M. und Jakoby, J.R.: (Course of gentamicin concentration in the blood of pigeons) Vogelkrankheiten-Schwerpunkt taube-Munchen. Tagung der Fachgruppe Geflugelkrankheiten., 3 und 4: 133-143 Marz (1983).
18. Sumano, H. y Ocampo, L.: Farmacologia veterinaria. McGraw Hill, México, D.F., 1988.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA