

76
2cl.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACION DE LA MEZCLA
ENROFLOXACINA - TRIMETOPRIM IN VITRO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
P.M.V.Z. RAUL RODRIGUEZ GARCIA**

**ASESORES: M.V.Z. HECTOR SUMANO LOPEZ
M.V.Z. LUIS OCAMPO CAMBEROS**



MEXICO, D. F.

1997

**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.

**EVALUACIÓN DE LA MEZCLA ENROFLOXACINA-
TRIMETOPRIM *IN VITRO***

**Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

de la

**Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista**

por

Raúl Rodríguez García

**Asesores: M.V.Z. Héctor Sumano López
M.V.Z. Luis Ocampo Camberos**

Abril de 1997

DEDICATORIA

A mi papá, Raúl Rodríguez Rico, por su ejemplo, apoyo y cariño; por la profunda admiración que le tengo.

A mi mamá, Yolanda García García, por su amor y cuidados constantes; porque sé que siempre estará conmigo.

A Adriana, porque gracias a ella me dí cuenta que mi capacidad de amar es muy grande.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

A mi H. Jurado: Luis Ocampo
Enequina Silva
Rosa M^a Cortéz
Alejandro de la Peña
Edgar Alfonseca

Al Departamento de Fisiología y Farmacología, especialmente al Dr. Héctor Sumano y a Corina, por haber puesto parte de su tiempo, paciencia y sobre todo su talento en este trabajo.

Al área de Bovinos del D.P.A.: Rumiante, en especial al Dr. Arturo Olguin y al Dr. Salvador Ávila, por ser mis maestros y amigos.

Al área de perros del Departamento de Reproducción por haberme brindado su amistad y hospitalidad.

A mis hermanos Luis y Griselda, a mi cuñado Marco Antonio y a mis sobrinitos Raúl y Natalia, por los buenos momentos.

A mis amigos, Maribel, Monica, Pilar, Sandra, Rosita, Shanti, Liz, Erasmo, Julio y Victor, por hacer de la escuela un lugar muy agradable.

A Dios, por su incondicionalidad.

**LO MARAVILLOSO de aprender algo es que nadie
puede arrebatárnoslo.**

-B.B. King

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
hipotesis	9
objetivo	9
MATERIAL Y METODOS	10
RESULTADOS	12
DISCUSION	15
CONCLUSIONES	17
LITERATURA CITADA	18
FIGURAS Y CUADROS	21

RESUMEN

RODRÍGUEZ GARCÍA RAÚL. EVALUACIÓN DE LA MEZCLA ENROFLOXACINA TRIMETOPRIM *IN VITRO*. (Bajo la dirección de MVZ Héctor Sumano López y MVZ Luis Ocampo Camberos).

El presente trabajo se realizó en el departamento de fisiología y farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México con el objetivo de demostrar la forma en como actúa la combinación de la enrofloxacin y el trimetoprim en forma mezclada sobre diferentes poblaciones de bacterias. Para este ensayo se corrieron las pruebas de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los fármacos por separado y en forma mezclada; los resultados obtenidos para esta prueba nos dejan ver que el efecto de la enrofloxacin en todos los casos se ve disminuido cuando se mezcla con el trimetoprim ($P < 0.05$). Estos datos posteriormente se utilizaron para obtener la Concentración Inhibitoria Fraccional (CIF), cuando esta resulta con un valor >2 indica alguna clase de antagonismo, siendo este el caso para las cuatro bacterias probadas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*). La otra prueba fué la titulación doble en microplaca donde los resultados, además de que a la interpretación de su rango terapéutico no presentaban valores que indicaran alguna clase de sinergismo, se incorporaron a un isoblograma (curva dosis respuesta para determinar la existencia de algún tipo de interacción) obteniéndose una línea convexa, indicando claramente alguna clase de antagonismo.

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA MEZCLA ENROFLOXACINA-TRIMETOPRIM *IN VITRO*.

INTRODUCCIÓN

Los efectos de una droga pueden modificarse por la administración concomitante de otra. En ese sentido hay que señalar que debe utilizarse el menor número de drogas, de preferencia una sola para cada indicación; la combinación de varias se prescribirá cuando esté demostrado perfectamente que dicha asociación es superior en un caso determinado.

Dada la existencia de preparados farmacéuticos a base de la mezcla enrofloxacina-trimetoprim y en virtud de que en los bancos de acopio internacional de información no existen referencias de su uso en forma mezclada*, ni se ha informado de experiencias de campo con la combinación de estos dos antimicrobianos, es necesario realizar pruebas de laboratorio para detectar si la percepción empírica del efecto complementario (sinergismo) de la mezcla citada es demostrable y químicamente compatible (3).

El objetivo de utilizar combinaciones antimicrobianas, como el caso de la mezcla enrofloxacina-trimetoprim se puede resumir como sigue:

*Se realizaron consultas por computación a los bancos CAD, BIOSIS, MEDLINE, ZOOLOGICAL RECORD ON CD, AGRIS, ASFA, FSTA, BEASTCD, VETCD.

- Evitar o retardar el surgimiento de cepas resistentes a un solo antibiótico.
- Obtener interacciones sinérgicas contra algún microorganismo cuya sensibilidad inicial a los antimicrobianos solos ha sido demostrada como muy baja para tener éxito clínico.
- Tratar infecciones mixtas o de origen bacteriano no bien identificado o en casos en los que la sensibilidad sea muy variable.
- Tratamientos de infecciones bacterianas en pacientes inmunocomprometidos (12).

En el cuadro 1 se listan algunas combinaciones conocidas que producen sinergia *in vivo*.

Por otro lado, se sabe que para obtener sinergias al combinar dos fármacos se requiere de varias condiciones:

1. La demostración de la sinergia *in vitro*.
2. La demostración de la sinergia *in vivo*.
3. La sinergia es particular a una especie y en ocasiones a un género de microorganismos pero no es extrapolable a todas las bacterias en todas las situaciones.
4. El efecto denominado sinergia se debe aplicar únicamente a los casos en que la mejoría en la capacidad antibacteriana sea por lo menos 20 veces superior a la suma de los efectos de los fármacos por separado.
5. Si un microorganismo es resistente a cada uno de los componentes de la mezcla, es en extremo improbable que la asociación aumente su sensibilidad (14,15) .

En otros países las normas señalan que para lanzar una

combinación de antimicrobianos es necesario realizar pruebas *in vitro* iniciales, principalmente basadas en isobogramas (6,15). Si esta combinación resulta sinérgica, entonces se podrá pasar a una segunda fase en la que se evalúe si la farmacocinética de ambos compuestos es realmente complementaria y da lugar a sinergia *in vivo* (5,14). Con base en lo anterior, se puede considerar como procedente realizar el ensayo para definir si en realidad existe sinergia o no de estos compuestos ya que dichas pruebas no existen en los archivos del registro del medicamento**.

En México los antimicrobianos para uso veterinario son objeto de vigilancia y regulación por parte de la Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR) a través de la Dirección General de Salud Animal.

Como consecuencia de las dificultades presupuestales a que han tenido que enfrentarse las autoridades de Sanidad Animal para llevar a cabo todas las tareas derivadas de su responsabilidad que por ley les corresponde, a partir de septiembre de 1991 en el acuerdo publicado en el Diario Oficial de la Federación y actualmente en la Ley Federal de Sanidad Animal del 18 de junio de 1995, bajo la denominación de Consejo Técnico Consultivo Nacional de Sanidad Animal, se integró el Comité en Productos Químicos, Farmacéuticos y Plaguicidas con el objeto de auxiliar a las autoridades de Sanidad Animal en diversos tópicos de tipo zoonosanitario.

** Comunicación personal MVZ Bernardo Lozano, presidente de CANIFARMA. División Veterinaria.

Con relación a la normatividad para el uso de sales puras de antimicrobianos para uso veterinario, se ha estado trabajando conjuntamente con miembros de otros comités y de la Cámara Nacional de la Industria Farmacéutica Veterinaria y actualmente está en proceso de revisión el anteproyecto de Norma Oficial Mexicana "Especificaciones para la Comercialización de Sales Puras Antimicrobianas para Uso en Animales o Consumo por estos", siendo la unidad administrativa responsable de la elaboración de esta Norma la Dirección General de Salud Animal. Esta Norma es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y tiene por objeto establecer las condiciones que deberán cumplir las personas físicas o morales para la importación, comercialización y uso de sales puras antimicrobianas en animales o consumo por estos.

Esta norma es aplicable a todos los establecimientos dedicados a la producción, acondicionamiento y almacenamiento con fines de comercialización de antimicrobianos en forma de sales puras destinadas al uso o consumo en animales que representen un riesgo zoonosario o para la salud pública.

La vigilancia de esta norma corresponde a la SAGAR y a las delegaciones estatales en el ámbito de sus respectivas atribuciones y circunscripciones territoriales, de conformidad con los acuerdos de coordinación correspondientes.

La aplicación de las disposiciones contenidas en esta norma compete a la Dirección General de Salud Animal, así como a las Delegaciones de la Secretaría de Agricultura en el ámbito de sus respectivas circunscripciones territoriales.

Esta Norma no se aplica a sales puras antimicrobianas, cuya concentración de principio activo sea inferior al 33% que estarán reguladas por la Norma Oficial correspondiente.

Para la correcta aplicación de esta Norma se deben consultar las siguientes Normas Oficiales Mexicanas vigentes:

- ◆ NOM-008.- SECOFI. 1993.- Sistema General de Unidades de Medidas.
- ◆ NOM-003-ZOO. 1993.- Criterio para la operación de Laboratorios para Prueba Aprobados en materia Zoonosológica.
- ◆ NOM-012-ZOO. 1993.- Especificaciones para la Regulación de Productos Químicos, Farmacéuticos, Biológicos y Alimenticios para uso en Animales o Consumo por estos.
- ◆ NOM-014-ZOO- 1994.- Unidades de Verificación y Médicos Veterinarios Aprobados, Facultados para Prestar Servicios Oficiales en Materia Zoonosológica.

Por otro lado, es aventurada la comercialización de la mezcla de un fármaco como la enrofloxacin con otros, dado que el grupo farmacológico al cual pertenece es el de mayor desarrollo en la actualidad (19), además los rasgos farmacológicos que hasta ahora la han caracterizado, como excelente penetración tisular y su lenta eliminación, permiten su uso en forma aislada, obteniendo buenos resultados y gran eficacia clínica, en los casos en que esté indicado este medicamento; por lo tanto es fundamental un buen diagnóstico por parte del clínico para su uso adecuado.

El conocimiento de ciertos atributos farmacológicos, como el

mecanismo de acción de las sustancias, es primordial para elegir los que sean, en teoría al menos, los más indicados para probar una combinación que pudiera ser sinérgica. Por ejemplo, en el caso de las quinolonas y fluoroquinolonas el sitio sobre el que actúan en la bacteria es la ADN-girasa o topoisomerasa II (13). La función de la ADN-girasa es vital para la replicación de los ácidos nucleicos bacterianos. De manera muy simplificada, se puede decir que dicho material se encuentra superenrollado y que la función de la ADN-girasa consiste en convertir en lineal dicho material y girarlo en sentido contrario a la torsión normal de la doble hélice para permitir que el material genético se relaje para su replicación, transcripción, reparación y recombinación (11). Así pues, es como se puede explicar el carácter bactericida de las quinolonas en general; aunque es pertinente aclarar que cada quinolona actúa en forma particular. Con respecto a otras características, en general, las fluoroquinolonas y en especial las de tercera generación no se inactivan en presencia de suero, actúan independientemente del tamaño del inóculo y pueden ejercer su efecto antibacteriano a nivel intracelular (13).

Anadón *et al.* (1) encontraron que la enrofloxacin y algunas otras quinolonas se pueden absorber por el tubo digestivo con relativa eficiencia siendo la enrofloxacin una de las que más rápidamente se absorbe mostrando una biodisponibilidad por vía oral notable, superando el 80 y 90% alcanzando concentraciones pico a las 1.5-2 horas y se asegura, de manera global, que pueden alcanzar niveles terapéuticos en sangre. (13,16). Dada la naturaleza digestiva de los rumiantes la absorción sólo llega al 10% y por ende no se debe utilizar esta ruta (inclusive en

becerros es preferible la vía parenteral) (21).

Se elimina por riñón parcialmente metabolizada, siendo la ciprofloxacina su principal metabolito, tiene un buen volumen de distribución recomendándose así en prácticamente todas las especies para diversas enfermedades (13, 19).

En México, se ha usado la enrofloxacin para el tratamiento de la mastitis tanto por vía parenteral como por vía intramamaria en preparados diluidos (2), Soback *et al.* (17) sugirieron su uso ponderándolas como una muy buena opción para el secado sistémico. En general, se considera que las fluoroquinolonas de segunda y tercera generación son eficaces contra la mayoría de los patógenos habituales de la mastitis, inclusive en caso de mastitis crónicas por formas "L" de *Staphylococcus spp* intracelulares (4,21,22), con la ventaja de que no interfieren con las defensas orgánicas (17,22).

En el caso del trimetoprim lo que se acepta hasta el momento, es que actúa como antimetabolito de los folatos, inhibiendo a la enzima tetrahidrofolasa, combinandose con ella en competición de sustrato, de manera que se produce una carencia de tetrahidrofolato y por lo tanto de las coenzimas necesarias para la formación del DNA (7,12). Se absorbe rápidamente por vía oral (Concentración Plasmática Media a las 2-4 horas) excepto en rumiantes donde al parecer ocurre una degradación microbiana al pasar por el rúmen-retículo (18). Las concentraciones tisulares con frecuencia son mayores que en el plasma (pulmones, hígado y riñón especialmente). Cerca del 30 al 60% del trimetoprim se une a proteínas plasmáticas. Se excreta en su mayoría a través de orina por

filtración glomerular y secreción tubular. Su biotransformación no se ha establecido pero se cree que ocurre extensamente en el hígado especialmente en rumiantes, por lo tanto una cantidad sustancial puede encontrarse en heces. La vida media plasmática, aunque varía entre especies suele ser bastante prolongada manteniéndose así concentraciones eficaces hasta por más de 12 horas pudiéndose dar un intervalo de dosificación de 12 a 24 horas (12, 20).

Por otro lado se ha reportado deficiente la utilización de esta mezcla con respecto a lo que se esperaba.

HIPOTESIS

No existe un efecto aditivo ni sinérgico de la mezcla enrofloxacina-trimetoprim.

OBJETIVO

- ♦ Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de la enrofloxacina, el trimetoprim y enrofloxacina-trimetoprim utilizando pruebas de microdilución en medio de cultivo Muller-Hinton (placas de Bennet).
- ♦ Evaluar la eficacia de la mezcla enrofloxacina-trimetoprim y constatar la existencia de algún efecto aditivo o antagónico de la mezcla enrofloxacina-trimetoprim por medio del método de titulación doble en microplaca.

MATERIAL Y METODOS

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria .

A fin de determinar el espectro antimicrobiano de los agentes de este ensayo, se llevó a cabo la determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias de la mezcla enrofloxacina-trimetoprim, enrofloxacina y trimetoprim por separado en cepas oficiales de:

Pseudomonas aeruginosa ATCC # 27853

Streptococcus faecalis ATCC # 29212

Staphylococcus aureus ATCC # 29213

Escherichia coli ATCC # 25922

La determinación de las MIC's se realizó utilizando pruebas de microdilución en placas de Bennet, usando medio de cultivo mueller-hinton, con un pH que fluctuó entre 7.2 Y 7.4. La incubación se llevó a cabo a 37 grados centígrados por 18 horas, utilizando un inóculo de 1 ml, estandarizado a 10^8 unidades formadoras de colonias (ufc)/ml (referencia con el estándar de turbidez de MacFarland).

Para cada bacteria y para cada antimicrobiano (o mezcla) se utilizaron diluciones dobles seriadas, utilizando un tubo sin antibiótico como testigo (10). Los resultados se evaluaron por medio de la prueba estadística de U. de Mann-Witney (8).

En base a las MIC's determinadas anteriormente, se obtuvo el **índice CIF (Concentración Inhibitoria Fraccional)** para cada medicamento, para lo que se calculó de la siguiente manera: en cada línea de la microplaca se tomó el valor de cada fármaco que en

combinacion lograron la inhibición del crecimiento y se dividió por la CMI del fármaco solo, esto es:

$$\frac{\text{CMI de trimetoprim en combinación}}{\text{CMI de trimetoprim solo}} + \frac{\text{CMI de enrofloxacina en combinación}}{\text{CMI de enrofloxacina sola}} = \text{CIF trimetoprim} \cdot \text{CIF enrofloxacina} = \text{CIF}$$

Al recíproco del índice CIF se le llama factor de sinergia. Cuando CIF es 2.0 La combinación es antagónica . Si son indiferentes el valor sera intermedio (10).

Titulación doble en microplaca para determinación del efecto de una mezcla antimicrobiana.

Se expusieron los microorganismos problema (para esta mezcla se utilizó *E. coli*) a diluciones seriadas de los dos fármacos (enrofloxacina y trimetoprim) para que se evalúen todas las posibles combinaciones dentro del rango terapéutico, interpretándose los resultados como sigue:

1. **Efecto sinérgico:** cuando por lo menos 1/4 de CMI de trimetoprim + 1/4 de CMI del enrofloxacina inhiben el crecimiento.
2. **Parcialmente sinérgico:** cuando se requiere 1/4 de CMI de trimetoprim y 1/2 de CMI de enrofloxacina para inhibir crecimiento.
3. **Aditivo:** cuando se requiere la 1/2 de CMI de trimetoprim y la 1/2 de CMI de enrofloxacina para la inhibición del crecimiento.

Evidentemente valores superiores a estos indicarían alguna forma de antagonismo. (10)

Isoblograma.

Los resultados anteriores se incorporaron en un isoblograma, para lo cual se graficaron líneas que conectan puntos de efecto biológico equivalente. Si el resultado es una línea cóncava, la mezcla es sinérgica, una línea recta indica indiferencia, mientras que una línea convexa indica antagonismo. (12) En la figura No.1 se muestran los posibles resultados de un Isoblograma.

RESULTADOS

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria

Los resultados obtenidos en este apartado del ensayo, son quizás los más relevantes para determinar como interactúan estos medicamentos en forma mezclada. Los resultados obtenidos son de gran significancia para poder establecer como es que actúa un medicamento sobre el otro, pues el efecto que ocurrió es negativo, al aumentar la Concentración Mínima Inhibitoria de la mezcla en comparación con la enrofloxacin sola. No así en el caso de el trimetoprim pues aquí la CMI disminuyó en su valor.

Se compararon entre sí las concentraciones mínimas inhibitorias para enrofloxacin, trimetoprim y para enrofloxacin-trimetoprim mediante una prueba de U. de Mann- Witney en la que se encontró diferencias significativas entre las concentraciones mínimas inhibitorias de enrofloxacin vs trimetoprim y de trimetoprim vs enrofloxacin trimetoprim; pero no entre enrofloxacin y enrofloxacin-trimetoprim.

Estas diferencias se consideraron con un nivel de significancia de 0.05 ($P = 0.05$). En los cuadros 2,3 y 4 se presentan los valores más relevantes de la prueba de Mann-Witney.

Concentración Inhibitoria Fraccional

Las MIC's obtenidas anteriormente se utilizaron como datos para obtener la Concentración Inhibitoria Fraccional de los fármacos en cada bacteria. En los cuatro casos se obtuvieron valores superiores a 2, lo cuál indica que hay algún efecto antagónico.

- ***Pseudomonas aeruginosa***:

$$0.8/65.0 + 0.8/0.1 = 0.12 + 8.0 = \mathbf{8.012}$$

- ***Streptococcus faecalis*** :

$$0.1/1.0 + 0.1/0.05 = 0.1 + 2.0 = \mathbf{2.1}$$

- ***Staphylococcus aureus***:

$$1.6/2.0 + 1.6/0.8 = 0.8 + 2 = \mathbf{2.8}$$

- ***Escherichia coli***:

$$0.2/1.0 + 0.2/0.05 = 0.2 + 4 = \mathbf{4.2}$$

Si bien, en los casos de *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus*

aureus y *Escherichia coli*, los valores son apenas >2 , en lo que respecta a *Pseudomonas aeruginosa* fué muy por encima de el valor máximo.

Titulación doble en microplaca para determinación del efecto de la mezcla antimicrobiana.

En este caso las concentraciones mínimas que produzcan inhibición para considerar que existe algún efecto complementario de la mezcla en cuestión deben fluctuar entre 0.25 y 0.5 en el caso del trimetoprim y de 0.0125 y 0.025 en el caso de la enrofloxacin, esto es:

1. **Efecto sinérgico:** cuando por lo menos 0.25 de trimetoprim + 0.0125 de enrofloxacin inhiben el crecimiento.
2. **Parcialmente sinérgico:** cuando se requiere de 0.25 de trimetoprim + 0.025 de enrofloxacin para inhibir el crecimiento.
3. **Aditivo:** cuando se requiere de 0.5 de trimetoprim + 0.025 de enrofloxacin para inhibir el crecimiento.

Como se puede observar, no se obtuvieron valores dentro de los rangos para que hubiera inhibición del crecimiento. Se requirieron concentraciones mayores de ambos medicamentos para que así ocurriera (figura 2).

Isobolograma.

Para este ensayo se realizó la interpretación clásica del isobolograma (figura 3), donde al graficar una línea a partir de puntos de efecto biológico equivalente, se produce una regresión (línea

concava) indicando así, antagonismo de la mezcla utilizada.

DISCUSIÓN.

Aunque se ha descrito que el uso de isobogramas puede resolver la interrogante de si una combinación es o no sinérgica (12), otros estudios indican que la interpretación puede estar sujeta a errores matemáticos y proponen el uso de gráficas tridimensionales para encontrar la región en las concentraciones en las que realmente haya un efecto sinérgico (sumación o potenciación), antagónico o indiferente (9). Sin embargo esta tecnología requiere sistemas de computación que no están disponibles, aceptándose, por lo tanto la interpretación clásica del isobograma.

Los resultados obtenidos fueron determinados en microplaca y placa de Bennet, Bennet *et. al.* (3) y en ambas instancias se detectó que la mezcla enrofloxacin-trimetoprim tenía un efecto indiferente o antagónico. No obstante, la precipitación con la que se registran medicamentos en el país, permitió la venta de este producto en la línea avícola (Enro-trim, Avilab).

Las consecuencias del permitir el uso de una mezcla antagónica pueden ponderarse desde diferentes perspectivas, por ejemplo: Si se detecta en campo una disminución del efecto de la enrofloxacin por el trimetoprim, se podrá asumir desde una perspectiva simplista que se ha desarrollado resistencia a enrofloxacin aún con la ayuda del trimetoprim, lo que afectará la comercialización de otras preparaciones de enrofloxacin sola.

El efecto del trimetoprim sobre la bacteria, se logra al disminuir la eficiencia con la que la enzima tetrahidrofollasa reduce al ácido dihidrofólico (pteroilglutámico) a ácido tetrahidrofólico disminuyendo finalmente la participación de éste último en la síntesis de bases púricas y pirimidicas necesarias para la síntesis de ácidos nucléicos (12,22). Por su parte la enrofloxacina evita el desdoblamiento y replicación del material nuclear de la bacteria por bloqueo de la enzima topoisomerasa II (13). Sin embargo para otras quinolonas como el ácido nalidíxico se ha encontrado que buena parte del efecto se debe a la síntesis de una proteína autotóxica (16). Aunque este ensayo no está diseñado para determinar la causa del efecto antagónico observado resulta tentador especular que el trimetoprim puede estar ejerciendo una acción bacteriostática con inhibición de síntesis protéica por inhibición de síntesis de ácidos nucléicos y que quizá este efecto sea antagónico de la acción de la enrofloxacina sobre la bacteria. Sin embargo, dada la eficacia con la que actúan estos medicamentos por sí solos, no podemos descartar su utilización en forma combinada, aunque no mezclada, para atacar algún padecimiento; dadas las características farmacocinéticas de estos medicamentos, es factible pensar en una posible opción de terapia de amplia aplicación.

Como este caso podemos mencionar otros más, que son parte de las líneas de medicamentos veterinarios de algunos laboratorios, por ejemplo tenemos la combinación del ácido oxolínic con el trimetoprim, oxitetraciclina con trimetoprim, gentamicina con ácido nalidíxico, trimetoprim y nueve ingredientes más, ampilicilina combinada con

gentamicina y dexametasona y oxitetraciclina con iones divalentes como el cloruro de magnesio, entre otros.^{***} Como podemos notar es el trimetoprim un ingrediente al que se gusta asociar con otros por el probado éxito de su combinación con sulfonamidas.

CONCLUSIONES

Después de las pruebas realizadas en este ensayo y dados los resultados obtenidos de dichas pruebas, podemos concluir que no existe ningún efecto aditivo de la mezcla entre enrofloxacin y trimetoprim.

^{***} combinaciones obtenidas del **Prontuario de Especialidades veterinarias 16^ª** edición.

LITERATURA CITADA.

- 1.-Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Díaz, M.J., Vélez, C. & Bringas, P.: Pharmacokinetic and residue studies of quinolone compounds and olaquinox in poultry. *Ann. Rech. Vet.*, 21(Suppl. 1): 137s-144s (1990).
- 2.-Avila, S., Olguin, A., Ocampo, L., Sumano, H., Navarro, A., Canizal, E., Sánchez, M., Sánchez, M. y Alvarez, I.: Quinolonas aplicadas para el tratamiento de mastitis clínica. En: Memorias del XIX Congreso Nacional de Buiatría. *AMMVEB*. Torreón, Coahuila, México, 1995.
- 3.-Bennet, J.B., Brodie, J.L., Benner, E.J., & Kirby, W.M.: Simplified accurate method for antibiotic assay clinical specimens. *American Society of Microbiology*. 14:170-176. (1966).
- 4.-Bergan, T.: Quinolones In: Antimicrobial Agents Annual 2. Edited by: Peterson, P.K., Verhoef, J., 169-183. *Elsevier*, Amsterdam, Holland, 1987.
- 5.-Brown, S.A.: Veterinary Pharmacology in Animal Health Drug Development. Veterinary Pharmacology in the Pharmaceutical Industry. *Ninth Biennial Symposium. Am. Acad. Vet. Pharmacol. and Ther.* Cincinnati, Ohio. (1994).
- 6.-Crawford, L.M. and Franco, D.A.: Animal Drugs and Human Health. *Technomic Pub.Co. Inc.*, Lancaster, Pennsylvania, 1994.
- 7.-Dale, G.E., Langen, H., Page, M.G., Then, R.L. & Stuber, D.: Cloning and characterization of a novel, plasmid-encoded Trimethoprim-resistant dihydrofolate reductase from *Staphylococcus haemolyticus* MUR 313.

- Antimicrobial-Agents-Chemoterapy*. 39 (9): 1920-4 (1995).
- 8.-Dawson-Saunders, B. & Trapp, R.G. : Bioestadística Médica. *Ed El Manual Moderno*. México, D.F. ,1993.
- 9.-George, L.D.: Quantitative Relationships between Antimicrobial Exposure and Efficacy., En: Memorias del 36th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and chemotherapy (ICAAC). *American Society for Microbiology*. New Orleans, Louisiana, U.S.A. 1996.
- 10.-Lenette, E.H.; Manual of Clinical Microbiology. *American Society for Microbiology*. Washington D.C. 1985.
- 11.-Levinson, W.E. & Jawetz, E.: Microbiología e Inmunología. *Ed. El Manual Moderno*. México D.F. 1992.
- 12.-Litter, M.: Compendio de Farmacología. *El Ateneo*. Buenos Aires, Argentina, 1984.
- 13.-Pérez-Martínez, J.A.: Las quinolonas: Estructura química, mecanismo de acción bactericida y perfil de farmacología clínica. *Vet. Méx.*, 23: 57-66 (1992).
- 14.-Prescott, J.F. and Baggot, J.D.: Antimicrobial Therapy In Veterinary. *Blackwell Cientific Publications*. Boston, Massachusetts, 1988.
- 15.-Russell, A.D. and Quesnel, L.B.: Antibiotics: assesment of antimicrobial activity and resistance. *Academic Press*, London, New York, NY. (1983).
- 16.-Schroeder, J.: Enrofloxacin: A new antimicrobial agent. *Tydskr.S. Afr. Vet. Ver.*, 61: 122-124 (1989).
- 17.-Soback,S., Ziv, G., Winkler, M. & Saran, A.:Efficacy of parenteral dry cow therapy for *Staphylococcus aureus* udder infections. *Isr. J. vet.*

- Med.*, 45: 194-195 (1990).
- 18.-SUMANO, H.: Farmacología clínica en bovinos. *Ed. Trillas*, México D.F. 1996.
- 19.-Sumano, H.: Quinolonas y fluoroquinolonas en medicina veterinaria., *Vet. Méx.*, 24 83-92, (1993).
- 20.-Sumano, L.H y Ocampo, C.L.: Farmacología Veterinaria. *McGraw-Hill*. México, D.F. ,1988.
- 21.-Tulkens, P.M.: Target drugs for the treatment of intracellular infections. In: *New Insights Into the Pathogenesis of Mastitis*. Edited by: Burvenich, C., Vandeputte-van, M.G., Hill, A.W., 163-168. *Rijksuniversiteit Gent*, Gent, Belgica, 1991.
- 22.-Yancey, R.J. J., Sanchez, M.S., Rzepkowski,R.A., Chester, D.T., Barnes, R.E. & Ford, C.W.: Therapy of chronic staphylococcal mastitis. In: *New Insights Into the Pathogenesis of Mastitis*. Edited by: Burvenich, C., Vandeputte-van, M.G., Hill, A.W., 187-204. *Rijksuniversiteit Gent*, Ghent, Bélgica, 1991.

FÁRMACO	SINÉRGICO CON:
penicilina	estreptomicina, tienamicina, Ac. Clavulánico.
Carbencilina	gentamicina
Sulfonamida	trimetoprim, dimetoprim, ormetoprim, tetraciclina.
Penicilina	probenecid (mejor definida como potenciación).
Estreptomina	minociclina.
Polimixina E	eritromicina, cloranfenicol, bacitracina, tetraciclina, neomicina, neomicina.
Sulfonamida	aspirina (potenciación).
Espectinomina	lincomicina.
Nifuraldezona	subsalicilato de bismuto.

Cuadro 1. Ejemplos de algunas combinaciones que producen sinergia *in vivo*. (20)

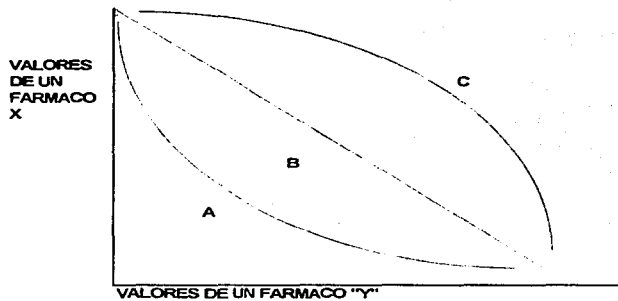


Figura 1. Tres posibles resultados de un isoblograma. A) mezcla sinérgica; B) mezcla indiferente y C) mezcla antagónica.

T R I M E T O P R I M

E		5.0	2.5	1.25	0.62	0.31	0.15	0.078	0.039	0.019	0.009	control
N	1.25	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	●
R	0.62	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	●
O	0.31	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	●
F	0.15	○	○	○	●	●	●	●	●	●	●	●
L	0.078	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
O	0.039	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
X	0.019	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
A	0	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	●
C												
I												
N												
A												

- con crecimiento
- sin crecimiento

Figura 2. Aspecto típico de una placa de microdilución con cantidades variables de enrofloxacina y trimetoprim y *Escherichia coli* como microorganismo problema. Esta figura representa el resultado de 4 réplicas.

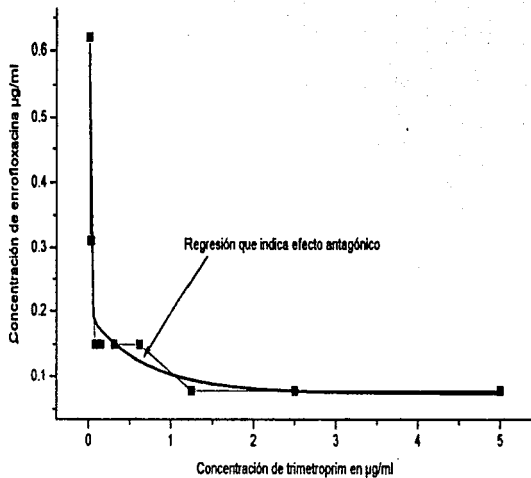


Figura 3. Isoblograma obtenido de una placa de microdilución con concentraciones crecientes de enrofloxacina y trimetoprim, utilizando *E. coli* como microorganismo problema.

Factores	Enrofloxacin Trimetoprim	Enrofloxacin	Enrofloxacin
Staphylococcus aureus ATCC 29218	0.8	0.1	0.1
Staphylococcus aureus ATCC 29218	0.1	0.05	0.05
Staphylococcus aureus ATCC 29218	1.6	0.8	0.8
Escherichia coli ATCC 25922	0.2	0.05	0.05

Cuadro 2. Resultados de las MIC's obtenidas de la Enrofloxacin, el Trimetoprim y la Enrofloxacin - Trimetoprim con 4 microorganismos.

Fármaco	Mediana	Varianza	Suma de Rangos	Valor de Mann-Witney
enrofloxacin	0.0750000	0.1012500	13.000000	13.000000
enrofloxacin-trimetoprim	0.5000000	0.3568750	23.000000	

Cuadro 3. Valores de la prueba de Mann-Witney para la comparación de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias entre Enrofloxacin vs Enrofloxacin - Trimetoprim..

Fármaco	Mediana	Varianza	Suma de Rangos	Valor de Mann-Witney
enrofloxacina	0,0750000	0,1012500	13,000000	16,000000
trimetoprim	1,5000000	760,18750	26,000000	

Cuadro 4. Valores de la prueba de Mann-Witney para la comparación de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias entre Enrofloxacina vs Trimetoprim..

Fármaco	Mediana	Varianza	Suma de Rangos	Valor de Mann-Witney
trimetoprim	1.5000000	760.18750	24.000000	14.000000
enrofloxacin -trimetoprim	0.5000000	0.3568750	12.000000	

Cuadro 5. Valores de la prueba de Mann-Witney para la comparación de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias entre Trimetoprim vs Enrofloxacin - Trimetoprim.