



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCION Y DE LA SALUD ANIMAL

DISEÑO DE UN PREPARADO DE LIBERACION SOSTENIDA Y LARGA
ACCIÓN Y DEFINICION DE SU FARMACOCINETICA EN EQUINOS

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

HEIDI ZOZAYA DOERING

TUTOR

HECTOR SUMANO LOPEZ

COMITÉ TUTORAL

LUIS OCAMPO CAMBEROS

ANDRES ROMERO ROJAS



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.

DEDICATORIAS

A mi hija DIANA porque me ha enseñado a valorar las cosas realmente importantes y porque es lo mejor que me ha sucedido en la vida.

A mi MAMA por ser un ejemplo de amor, superación, dedicación y disciplina, de lucha por la vida y defensa de principios. Sin su apoyo de toda la vida no hubiera llegado hasta aquí.

A mi PAPA que está en mi corazón y al que extraño todos los días.

A OPA y OMA que fueron y siempre serán para mí un ejemplo de vida.

A TANTE HILDE de la que aprendí tanto y que extraño todos los días.

A EDGAR porque me ha enseñado a lograr lo que se quiere y por darme la libertad de hacerlo.

A ANA MA. RIOS por su amistad, por ser un ejemplo de lucha y porque la quiero mucho.

A todos los CABALLOS, especialmente a Duende, Emily, Bebedizo, Pinta, Colorada y Avril y a los caballos de la UPM Montada de la Secretaría de Seguridad Pública.

AGRADECIMIENTOS

A la Srita. Ma. Carmen Becerra, al Ing. Sergio Moreno Cárdenas, al MVZ. José Ramos Narváez y al Arq. Ernesto Díaz García por confiar en mí y prestarme sus caballos

Al MVZ. Edgar Villanueva Hidalgo por su apoyo y ayuda.

Al 2º Superintendente Isaías Cisneros Arellano, Director de la UPM Montada de la Secretaría de Seguridad Pública por su apoyo.

Al MVZ Cert. Roberto A. Miramontes Rivera, Responsable de la Unidad Médico Veterinario de la UPM Montada, por su confianza e invaluable ayuda.

Al personal de la Unidad Médico Veterinario de la UPM Montada de la Secretaría de Seguridad Pública por su apoyo incondicional y paciencia:

Pol 712948 Rafael Guadalupe Huerta Valdez

Pol 717293 Saturnino Méndez León

MVZ Noe Rojas Moreno

PMVZ Abel Jiménez Garcés

PBIol Federico Galicia Islas

MVZ Cruz José Flores Pineda

MVZ Cert Javier Arroyo Ruiz

MVZ Cert José Luis Hidalgo Kono

A la Sra. Felisa González González por su amistad, su incondicional ayuda y eterna paciencia.

A la Dra. Lilia Gutierrez Olvera por su amistad, su valiosa ayuda y paciencia.

A la Dra. Rita Aguilera Jiménez por su amistad y su invaluable apoyo.

Al Dr. Héctor Sumano López por su amistad, impulso, ayuda incondicional y paciencia.

Al Dr. Luis Ocampo Camberos por su amistad y constante apoyo.

Al Dr. Andrés Romero Rojas, por su amistad, sus consejos y constante apoyo.

INDICE

RESUMEN

INTRODUCCION

REVISION DE LA LITERATURA

MATERIAL Y METODOS

RESULTADOS

DISCUSION

REFERENCIAS

APENDICE 1 ESQUEMA EXPERIMENTAL

TABLAS DE RESULTADOS

CUADROS

RESUMEN

Se determinaron los parámetros farmacocinéticos en equinos después de la administración de fosfomicina disódica a una dosis de 10 mg/kg y 20 mg/kg por vía endovenosa (IV), intramuscular (IM) y subcutánea (SC) cada una a 10 caballos adultos clínicamente sanos. La concentración sérica al tiempo (C_{50}) obtenida fue de $112.21 \pm 1.27 \mu\text{g/mL}$ and $201.43 \pm 1.56 \mu\text{g/mL}$ para cada dosis. La biodisponibilidad para la administración SC fue de 84% y 86% para la dosis de 10 mg/kg y 20 mg/kg respectivamente. Teniendo en consideración que la concentración máxima (C_{max}) obtenida fue de $56.14 \pm 2.26 \mu\text{g/mL}$ con 10 mg/kg por vía SC y $72.14 \pm 3.04 \mu\text{g/mL}$ con 20 mg/kg por vía SC, que la fosfomicina es clasificada como un antimicrobiano tiempo dependiente, se puede concluir que se obtienen niveles plasmáticos terapéuticos hasta por 10 horas con la administración de 20 mg/kg de fosfomicina acuosa por vía SC. La relación farmacocinética/farmacodinámica del área bajo la curva (AUC_{0-12}) entre la MIC_{90} calculada fue de 996 para la dosis de 10 mg/kg y 1260 para la dosis de 20 mg/kg para bacterias sensibles a la fosfomicina y 15 para la dosis de 10 mg/kg y 19 para la dosis de 20 mg/kg para cepas más resistentes, y con ello, la eficacia *in vivo* del antimicrobiano.

En una segunda fase del trabajo se determinaron las constantes farmacocinéticas de dos preparados de larga acción (LS-LA) de fosfomicina disódica, los cuales fueron administrados a una dosis de 10 mg/kg por vía intramuscular (IM) a 10 caballos adultos clínicamente sanos.

La biodisponibilidad fue de 84% para el preparado A y 86% para el preparado B, respectivamente. La C_{max} obtenida fue de $56.14 \pm 2.26 \mu\text{g/mL}$ con el preparado A y $72.14 \pm 3.04 \mu\text{g/mL}$ con el preparado B. Se puede concluir que se obtienen niveles plasmáticos terapéuticos hasta por 10 horas con la administración del preparado B a una dosis de 10 mg/kg por vía IM. La relación farmacocinética/farmacodinámica calculada AUC_{0-12}/MIC_{90} fue de 996 para el preparado A y 1260 para el preparado B si se consideran cepas bacterianas sensibles a la fosfomicina, mientras que si se trata de cepas más resistentes, esta relación disminuye a 15 para el preparado A y 19 para el preparado B.

ABSTRACT

Pharmacokinetic parameters of fosfomycin were determined in horses after the administration of disodium fosfomycin at 10 mg/kg and 20 mg/kg intravenously (IV), intramuscularly (IM) and subcutaneously (SC) each, to ten clinically healthy adult horses. Serum concentration at time zero (C_{S0}) was $112.21 \pm 1.27 \mu\text{g/mL}$ and $201.43 \pm 1.56 \mu\text{g/mL}$ for each dose level. Bioavailability after the SC administration was 84% and 86% for the 10 mg/kg and the 20 mg/kg dose, respectively. Considering the documented minimum inhibitory concentration (MIC_{90}) range of sensitive bacteria to fosfomycin, the maximum serum concentration obtained ($56.14 \pm 2.26 \mu\text{g/mL}$ with 10 mg/kg SC and $72.14 \pm 3.04 \mu\text{g/mL}$ with 20 mg/kg SC) and that fosfomycin is considered a time-dependant antimicrobial, it can be concluded that clinically effective plasma concentrations could be obtained for up to 10 hours administering 20 mg/kg SC. The area under the curve $\text{AUC}_{0-12}/\text{MIC}_{90}$ ratio in this case was calculated as being 996 for the 10 mg/kg dose to 1260 for the 20 mg/kg dose for sensitive bacteria and 15 for the 10 mg/kg dose and 19 for the 20 mg/kg dose for more resistant strains.

A second phase of this study was the pharmacokinetic analysis of two slow releasing – long acting (SR-LA) disodium fosfomycin formulas. These were administered intramuscularly at a 10 mg/kg dose in ten clinically healthy adult horses.

Bioavailability found for formula A was 84% and 86% for formula B. The C_{max} obtained with the administration of formula A was $56.14 \pm 2.26 \mu\text{g/mL}$ and $72.14 \pm 3.04 \mu\text{g/mL}$ with formula B. It can be concluded that therapeutic plasmatic levels could be reached during 10 hours with the intramuscular administration of formula B at a dose of 10 mg/kg. The $\text{AUC}_{0-12}/\text{MIC}_{90}$ ratio for formula A was 996 and 1260 for formula B if sensitive bacteria have to be treated. If, on the other side, more resistant strains have to be dealt with, this ratio diminishes to 15 for formula A y 19 for formula B.

Keywords: Fosfomycin, horse, pharmacokinetics, dosing interval, efficacy

INTRODUCCION

En la práctica clínica diaria del profesional que se dedica a los equinos se presentan con frecuencia casos clínicos en los que se requiere la aplicación de antibacterianos. La lista de las patologías en las que se ven involucradas bacterias como *Streptococcus equi*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus pneumoniae* (Timoney, 2004), *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridium* spp. y otras, es larga. Son comunes las infecciones del árbol respiratorio alto y bajo como gurma y neumonías, abscesos, celulitis y osteomielitis causados por traumatismos y heridas, onfaloflebitis, septicemias y artritis sépticas en neonatos, etc. Sin embargo, debido a la idiosincrasia de la especie las opciones de antibacterianos que se pueden utilizar se reducen significativamente debido a la posibilidad de que se presenten reacciones adversas en el animal. La penicilina G procaínica es el antibacteriano más utilizado en la clínica de equinos y se ha informado de hasta un 15% de reacciones adversas, que incluyen excitación del SNC y postración. Estas están causadas principalmente por toxicidad de la procaína en esta especie (Chapman, 1992; Sumano, 2004).

Todos los antimicrobianos tienen el potencial de producir cambios en la microflora intestinal del ciego y el colon del caballo (Gustafsson, 2004). El primer informe documentado de la presentación de diarrea aguda asociada con el uso de antibióticos fue en 1971, año en el que murieron 2 de 3 caballos a los que se administró tetraciclina por vía intramuscular a una dosis de 27 – 40 mg/kg. (Keir et al., 1999; Andersson, 1971; Cook, 1973). Se reconoce la presentación de colitis aguda asociada con la proliferación de *Clostridium difficile* y *Salmonella* spp en caballos que han estado bajo tratamiento con β lactámicos (penicilina G procaína, ampicilina y cefalosporinas) (Baverud et al., 1997; Foreman, 1998), eritromicina, rifampicina, clindamicina y lincomicina, (Gustafsson, 1997; Prescott et al., 1988), ciprofloxacina (Weese et al., 2002) y bacitracina (Collinder et al., 2002). Se ha asociado el uso oral de trimetoprim/sulfonamida con la presencia de heces suaves y diarrea en algunos caballos tratados (Ensink, 1996), aún cuando en otros estudios no se encontraron cambios importantes en la flora gastrointestinal. (Gustafsson, 1999). Las fluoroquinolonas causan daño en el cartílago articular en animales jóvenes, por lo que su uso está

contraindicado en animales en pleno desarrollo óseo y en yeguas gestantes (Egerbacher, 2001; Davenport, 2001).

Investigadores como Vengust et al. (2002) manejan la teoría de que existen esporas latentes de *Clostridium* spp en el tejido muscular de caballos sanos. El riesgo de provocar miositis o mionecrosis clostridial mediante una inyección intramuscular es alto, independientemente de la técnica de inyección que se use. La miositis clostridial puede tener graves consecuencias como laminitis, edema pulmonar y muerte (Brielle, 2004). Este peligro aumenta cuando es necesario dosificar el antimicrobiano frecuentemente, como es el caso de la gentamicina, utilizada para tratar infecciones por bacterias Gram negativas (Zürich et al., 1997). De este aminoglicósido se requiere una dosificación cada 6 ó 8 horas por vía parenteral (IV ó IM) para disminuir el riesgo de producir nefrotoxicidad (Britt y Byars, 1997). No obstante, se ha postulado una dosis de 6.6 mg/kg cada 24 hrs para disminuir la frecuencia de inyecciones (Magdesian, 1998) con lo que de paso se logran concentraciones pico mayores, variable ésta que es clave para antimicrobianos dependientes de la concentración (Mueller, 2004). Obviamente, en caballos es importante considerar que la administración parenteral frecuente de un antimicrobiano aumenta el estrés del animal y el riesgo para el médico. Esto ocasiona una inconsistencia en los esquemas de tratamiento y por ende una falla terapéutica.

Por otro lado el vehículo de las formulaciones de los antibacterianos llamados de larga acción utilizadas en los preparados de oxitetraciclina, amoxicilina y otros, como propilenglicol y polivinilpirrolidona, útiles en especies como bovinos o porcinos para reducir la frecuencia de las aplicaciones están contraindicados en equinos por el dolor e inflamación severa que producen en el sitio de la aplicación. Evidentemente estos preparados producen fácilmente colapso circulatorio o choque de velocidad medicamentoso, si se administran por vía IV (Dowling, 1999).

Es claro que no es deseable una reacción inflamatoria en el sitio de la aplicación, no sólo por las consecuencias mencionadas anteriormente, sino porque la absorción del

fármaco aplicado disminuye y porque puede haber falla terapéutica (Ahmed y Kasraian, 2002).

La fosfomicina es un fármaco antibacteriano de amplio espectro descubierto en 1966 en España (Kirby, 1977). Ha sido utilizado durante los últimos 30 años en medicina humana para tratar una amplia variedad de infecciones bacterianas (Sumano et al. 2006; Joukhadar et al., 2003; Patel et al., 1997). Debido a sus características farmacocinéticas y farmacodinámicas, su alto índice de tolerancia por los pacientes y baja toxicidad, la fosfomicina se utiliza ampliamente en la Unión Europea (Gray et al., 2001; Barry, 1995), aún cuando en los Estados Unidos sólo está aprobada por la FDA para el tratamiento de cistitis aguda causada por cepas sensibles de *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*¹. Su aplicación en medicina veterinaria en la actualidad es reducida. Existen reportes de su uso en pollo de engorda para el tratamiento de infecciones por *Escherichia coli* y *Salmonella* spp (Fernández et al., 2001; Fernández et al., 1998) y de la sensibilidad de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Pastereulla multocida* al fármaco en cerdos (Williams et al., 2001). Se han estudiado los valores farmacocinéticos de la fosfomicina en aves (Aramayona et al., 1997), en conejos (Fernández et al., 1987; Fernández et al., 1986) y en ganado bovino (Sumano et al., 2006).

No existen estudios de farmacocinética, ni experiencia terapéutica documentada con el uso de fosfomicina en equinos. Por su mecanismo de acción y su espectro, se considera que este antimicrobiano pudiera ser una alternativa en la práctica clínica en equinos, sobretodo por lo observado en otras especies, incluyendo el ser humano. En el mercado veterinario existen preparados comerciales con fosfomicina en solución acuosa para uso parenteral (Parfarm, S.A.; Avimex, S.A. de C.V.). A pesar de lo anterior solo hay datos cinéticos para bovinos. Éstos indican una rápida eliminación con $T_{1/2\beta}$ de tan sólo 1 a 2 horas por vía IV y 1.8 a 3 horas por vía IM (Sumano et al., 2006). De acuerdo con lo postulado por Sauermann (2005) en el sentido de que es más útil una estancia prolongada de la fosfomicina que concentraciones muy elevadas, el diseño farmacéutico de este fármaco en caballos exige una liberación prolongada que optimizaría la

¹FDA Drug Approvals for December 1996 <http://www.fda.gov/cder/da/da1296.htm>

actividad del antibacteriano y reduciría el manejo del paciente. Para tal fin, se puede recurrir a la formulación de un preparado de fosfomicina a partir de un polímero biodegradable como vehículo; por ejemplo el quitosan, matriz que pudiera controlar la velocidad de liberación del principio activo y mantener concentraciones plasmáticas sostenidas durante varios días, optimizando así su farmacocinética/farmacodinamia (PK/PD); ésto es, que el valor de la C_{max} (concentración plasmática máxima) sea \geq a 3 veces la CMI y que el área bajo la curva de la concentración plasmática vs. tiempo (AUC) dividido entre la CMI (AUC/CMI) sea $> 40 - 50$ (Ahmed y Kasraian, 2002).

Tomando en cuenta estos factores y sumando las ventajas prácticas que tiene el limitar el manejo de un animal enfermo, el optimizar la administración del tiempo y el disminuir el riesgo de aplicaciones por vía parenteral a intervalos cortos de cualquier fármaco, se considera que una formulación de fosfomicina disódica de liberación sostenida y larga acción (LS-LA) será una alternativa viable para uso en equinos debido a los valores farmacocinéticos del antimicrobiano que se obtienen tras su aplicación, teniendo en cuenta, sin embargo, que se tendrán que realizar los estudios de tolerancia y toxicidad correspondientes.

Por lo tanto el objetivo del presente trabajo fue, en una primera fase, determinar la PK de la fosfomicina disódica acuosa en equinos a dos dosis (10 mg/kg y 20 mg/kg) por vía endovenosa, intramuscular y subcutánea. Una segunda etapa consistió en desarrollar dos preparados de liberación sostenida y larga acción (LS-LA) de fosfomicina disódica que se aplicaron a una dosis de 10 mg/kg por vía intramuscular. En ambos casos se determinaron sus valores cinéticos estándar para correlacionarlos con su aplicación clínica y determinar el intervalo de dosificación con base en modelaje de farmacocinética/farmacodinamia (PK/PD).

REVISION DE LA LITERATURA

Fosfomicina

Características químicas

La fosfomicina (L – (cis) -1,2 ácido –epoxipropil fosfónico) se obtuvo inicialmente a partir de la fermentación de varias especies de *Streptomyces* (Rogers, 1974). (Véase figura 1). En la actualidad se produce por la epoxidación estereoselectiva de subproductos de microorganismos como *Pseudomonas*, *alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Aeromonas* y *Corynebacterium*. (Liu, 2004; Gobernado, 2003). La fosfomicina no se relaciona químicamente con ningún otro antibiótico utilizado en la práctica clínica, ya que su molécula presenta un anillo epóxido y un grupo fosfonato, que no son comunes a otros antibióticos y que determinan su actividad antibacteriana (Kirby, 1977; Rogers y Birnbaum, 1974) Su molécula es sencilla e hidrosoluble. Tiene un peso molecular de 138.1 Da y está compuesta por tres átomos de carbono unido a un átomo de fósforo. (Nau, 1995). La sustitución de los dos átomos de hidrógeno del radical fosfórico por dos de sodio origina la sal disódica, utilizada para la administración parenteral en humanos. (Gobernado, 2003) (Véase figura 3). Esta sal es muy soluble en agua y una solución al 5% en la misma tiene un pH de 9.0 a 10.5.¹ La sustitución de los dos átomos de hidrógeno por uno de calcio en la molécula de fosfomicina da lugar a la sal cálcica, diseñada para utilizarse por la vía oral en humanos. Presenta poca absorción debido a su baja hidrosolubilidad (Gobernado, 2003) Una solución al 0.1% de la misma en agua tiene un pH de 8.1 a 9.6. La incorporación de la base orgánica trometamol o trometamina (tris-hidroximetil-aminometano) a la molécula facilita la absorción de la sustancia activa al torrente sanguíneo después de la administración oral (Reeves, 1995), ya que es muy soluble en agua y una solución al 5% en la misma tiene un pH de 3.5 a 5.5.

Espectro antibacteriano

El espectro de la fosfomicina es amplio. Se ha demostrado actividad *in vitro* contra una gran variedad de bacterias Gram positivas y Gram negativas, incluyendo

¹ http://www.medicinescomplete.com/mc/martindale/current/ms-179-a.htm?q=%22fosfomicin%22#_hit

Staphylococcus aureus., *Streptococcus* spp, *Haemophilus* spp, *Bacillus anthracis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp, *Salmonella* spp, *Fusobacterium* spp, *Clostridium* spp y otros anaerobios, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, como se muestra en el Cuadro 1 (Gobernado, 2003; Nakazawa et al. 2003; Williams et al., 2001). Las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC₉₀) detalladas en la literatura fluctúan de 0.25 µg/ml para *Streptococcus* spp y 0.5 µg/ml para *Escherichia coli* (Fernández et al., 1995), hasta valores de 16 µg/ml para bacterias y cepas más resistentes. La fosfomicina no ha mostrado tener efecto antibacteriano sobre las especies de *Leptospira* (Oie, 1986). Mazzei et al. (2006) y Pedreira (2003) mencionan además un efecto postantibiótico de 3.4 a 4.7 horas. Se ha demostrado que se puede obtener una actividad antibacteriana máxima con fosfomicina manteniendo el valor de la MIC₉₀ al triple y aparentemente no hay ningún beneficio en aumentar la concentración (Pfausler et al., 2004). Por lo tanto se le puede considerar como un antibacteriano dependiente del tiempo y por ello la congruencia de su uso en equinos desde el punto de vista de farmacocinética-farmacodinamia (PK/PD), es mediante un preparado de liberación sostenida – larga acción (LS-LA) (Medlicott, 2004; Mueller, 2004)

Mecanismo de acción

La fosfomicina ingresa en las bacterias a través de permeasas que habitualmente transportan L-alfa-glicerofosfato ó D-glucosa 6 fosfato (Hoeprich, 1971; Detter, 1983) y actúa como análogo del fosfoenolpiruvato, inhibiendo a la UDP-N-acetilglucosamina-3-0-enolpiruvil transferasa (MurA) (Gobernado, 2003). Esta enzima cataliza el primer paso de la síntesis del peptoglicano, componente de la pared celular (Gray et al., 2001). Por ello se considera que su efecto antibacteriano se basa en la inhibición de la producción de pared celular como se esquematiza en la figura 2. Como muchas bacterias requieren de la pared para mantener una permeabilidad selectiva, ésta se pierde y se traduce en un efecto bactericida, en particular sobre las bacterias en fase de crecimiento. Su mecanismo de acción sobre las primeras etapas de la formación de la pared bacteriana sugiere un efecto aditivo o sinérgico con otros antibióticos como se muestra en el cuadro 2 (Pruekprasert, 2005; Blacky et al., 2005; Gobernado, 2003; Nau,

1995). No presenta resistencia cruzada con otros antibióticos, probablemente debido a su estructura química y a su mecanismo de acción únicos (Patel et al., 1997).

Farmacocinética

Ante todo es importante destacar que no hay datos de la PK de la fosfomicina en equinos. Por ello se presenta a continuación una compilación de datos en otras especies, principalmente en humanos.

Absorción

Zeitlinger et al. (2004) determinaron que la biodisponibilidad oral en humanos de la fosfomicina trometamol puede llegar hasta el 50%, mientras que la de la fosfomicina cálcica es del 20 al 40%. La C_{max} a las 2 horas encontrada con una dosis de 1 g de fosfomicina cálcica por vía oral fue de 5.2 µg/ml. (Gobernado, 2003) La biodisponibilidad por vía IM es del 74.52% en bovinos (Sumano et al., 2006) Después de una dosis endovenosa de 300 mg/kg en 8 conejos, la C_{max} sérica fue de 324.48 ± 102.1 µg/ml a la 0.5 h (Ribes, 2006). La vía intramuscular en humanos es menos utilizada, ya que produce dolor severo, por lo que requiere de la inclusión de lidocaína al 1% en la formulación, la cual no interfiere con la absorción de la fosfomicina (Kirby, 1977). La C_{max} a la hora es de 17.1 a 45.5 µg/ml, dependiendo de la dosis (0.5 a 2 g), manteniendo una concentración de 8 µg/ml a las seis horas con la dosis de 1 g. (Kirby, 1977)

Distribución

La fosfomicina tiene una unión a proteínas plasmática muy baja (< 0.5%) (Sumano et al., 2006; Bergan, 1990). La distribución a los tejidos en humanos es moderado (Gobernado, 2003). En bovinos el volumen de distribución desde el compartimiento central (V_{d_{area}}) es de 673 ± 27 ml/kg y el volumen de distribución en el estado de equilibrio (V_{d_{ss}}) es de 483 ± 11 ml/kg. (Sumano, 2006), lo que sugiere una distribución moderada desde el compartimiento central. Se distribuye con un modelo de un

compartimiento (Sumano et al., 2006; Gutiérrez et al., 2007).

La distribución de fosfomicina en hueso esponjoso y cortical fue reportada por Sirot et al. (1983). Una hora después de la administración de 4g por vía IV la concentración de fosfomicina fue de 105.0 ± 12.4 $\mu\text{g/ml}$ en suero, 19.6 ± 4.8 $\mu\text{g/g}$ en hueso esponjoso y 13.3 ± 3.7 $\mu\text{g/g}$ en hueso cortical. A las 3 hs las concentraciones fueron 67.8 ± 15.9 $\mu\text{g/ml}$, 10.0 ± 4.2 $\mu\text{g/g}$ y 2 ± 3.6 $\mu\text{g/g}$ en suero, hueso esponjoso y hueso cortical., respectivamente. La concentración en el tejido óseo disminuyen en relación directa a la concentración sérica y la relación tejido/suero permanece en $15 \pm 4\%$.

Se sabe que la fosfomicina atraviesa la barrera hematoencefálica en humanos, pasando rápidamente al líquido cefalorraquídeo (LCR). Sicilia y cols. (Gobernado, 2003) encontraron en adultos con meningitis una penetración de fosfomicina en el LCR del 25.7% de la concentración plasmática, superior a la de la penicilina (7.9%) y la ampicilina (15.9%) e inferior a la del cloranfenicol (32%). Ribes et al. (2006) demostraron una penetración del 49.2 % en LCR en conejos. La penetración de la fosfomicina en parénquima cerebral es alto (Brunner, 2002).

La fosfomicina alcanza concentraciones altas en líquido intersticial. (Joukhardar, 2003). Se administró una dosis de 50 mg/kg/día por vía IV en enfermos con quemaduras graves y se obtuvo una Cmax de 77 $\mu\text{g/ml}$ a la hora en las ampollas cutáneas, comparado con la Cmax sérica de 166 $\mu\text{g/ml}$ (Koh, 1986). En el líquido intersticial y tejido subcutáneo de enfermos con celulitis y síndrome del pie diabético, la fosfomicina alcanza concentraciones en tejidos inflamados y no inflamados del 34 a 43% de las plasmáticas (Legat, 2003).

En el sistema respiratorio, la penetración de fosfomicina varía dependiendo del tipo de tejido y de la dosis administrada, pero en tejido pulmonar sano, tras la administración de 2 g de fosfomicina por vía parenteral, la concentración del antibiótico es del 32% al 52% de la sanguínea y la mitad en tejido pulmonar tumoral (Gobernado 2003). En el líquido pleural la cinética de fosfomicina se comporta como la de un modelo bicompartimental abierto, con concentraciones máximas medias de 42.63 $\mu\text{g/ml}$ a las

tres a cuatro horas de administrar 30 mg/kg en bolo por vía IV (Fernández et al. 1994).

La fosfomicina tiene una buena penetración en el humor acuoso y vítreo (Kofler, 1986). Después de la administración de 4 g por vía IV, la Cmax en el humor acuoso a la hora fue de 14.63 µg/ml ± 5.54 a las 2 h y manteniendo niveles significativos a las 12 horas (Forestier, 1996)

Después de una dosis de 8 g por vía IV, la Cpromedio en pus de abscesos intracraneales de 12 personas fue de 182 ± 64 µg/mL en el estado estable, valor por arriba de la MIC_{50/90} de varias especies bacterianas involucradas comúnmente en la formación de abscesos, como *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. y *Escherichia coli*. La vida media de la fosfomicina en el fluido dentro de los abscesos fue de 32 a 39 horas (Sauer mann, 2005).

La Cmax obtenida en el útero después de una dosis de 2 g de fosfomicina sódica por vía endovenosa fue de 26.56 ± 53.48 µg/g lo cual indica una buena penetración a este órgano (Cho, 1985).

Biotransformación y eliminación

La mayor parte de la dosis (>80%) administrada por vía oral y endovenosa es eliminada a través de la orina en forma activa (Gobernado, 2003; Gialdroni, 1990; Patel et al., 1997). La vida media de la fosfomicina trometamol administrada por vía oral en humanos es de 5.7 h. Después de una dosis oral única de 3 g alcanza una Cmax en orina a las 4 horas y permanece a concentraciones altas (>128 µg/ml) durante 24 – 48 hs (Patel, 1997).

Sumano et al. (2006) encontraron en bovinos una T_½ por vía IM de 2.17 ± 0.4 h y por vía IV de 1.33 ± 0.3 h después de administrar 20 mg/kg de fosfomicina disódica por ambas vías durante tres días. Estos valores permanecieron constantes durante los tres días y se consideró que tenía una cinética de primer orden no acumulativa.

Su biotransformación es prácticamente nula. (Goto, 1981) y la eliminación por bilis es mínima (Shimizu, 1977)

La concentración de fosfomicina como molécula activa encontrada en orina después de 12 horas representa el 87% de la dosis total administrada por vía endovenosa, el 43% de fosfomicina trometamol administrada por vía oral y el 18% de fosfomicina cálcica también administrada por vía oral (Bergan, 1990).

Toxicidad y efectos adversos

La fosfomicina trometamol es bien tolerada en humanos (Schito, 2003) aún a dosis repetidas de 8 g/día IV durante 7 días, 4 g/día IM durante 5 días y 4 g/día PO durante 7 días (Kuemmerle, 1987). Otros estudios reportan la presentación de pocas reacciones adversas que consisten básicamente en cefalea, mareos y síntomas gastrointestinales transitorios y autolimitantes como dolor abdominal y vómito (Patel et al. 1997; Reeves, 1994). En un estudio con 48 pacientes, el 8.3% presentó náuseas y urticaria después de una dosis de 8 a 24 g/día de una combinación de fosfomicina con un β lactámico por vía oral durante 14.4 +/- 8.3 días (Stengel, 2005). Durupt et al., (2001) reportaron un caso inusual de toxicidad hepática aguda en una paciente con fibrosis quística, pero usualmente no es un efecto ligado a este fármaco. No tiene efectos secundarios adversos durante la gestación en humanos (Reeves, 1992).

Es, sin embargo, importante mencionar la presentación de dolor en el 7% de las personas a las que se administró por vía intramuscular y flebitis en el 0.1% a las que se administró por vía endovenosa (Pedreira, 2003)

En equinos la principal forma de efectos adversos de los antibacterianos en el tracto gastrointestinal se produce por permitir o fomentar el crecimiento de *Clostridium difficile* y de *Salmonella* spp en colon mayor y ciego (Gustafsson, 2004). Aunque no hay datos en esta especie, es factible que este efecto adverso no se presente, ya que en ocho personas sanas a las que se administró 5 g de fosfomicina cada 12 horas (84 mg/kg) no se detectaron alteraciones en *Bacteroides* y lactobacterias anaerobias, ni la

selección de *Clostridium difficile* (Knotte, 1991)

Usos

Los usos clínicos de fosfomicina en humanos son amplios. Bonfiglio et al. (2005) recomiendan una dosis única de 3 g por vía oral como primera opción en el tratamiento de infecciones urinarias. Se ha recomendado además para el tratamiento de infecciones del SNC, como meningitis causada por *Streptococcus pneumoniae*, en combinación con ceftriaxona o vancomicina (Ribes, 2006; Nau, 1995) y en abscesos intracraneales (Brunner, 2002).

La fosfomicina ha demostrado ser de utilidad, con una eficacia del 87.5% o más, en otitis media purulenta crónica supurativa y otros cuadros clínicos otorrinolaringológicos causados por *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (Deguchi, 1995).

Su uso está indicado en los pacientes diabéticos en los que hay infección de tejidos blandos y en ocasiones, de huesos y articulaciones (Stengel, 2005; Legat, 2003); en artritis séptica y osteomielitis causada por *Citrobacter freundii* y *Haemophilus influenzae* tipo b (Stricker, 1998); y en osteomielitis causada por *Pseudomonas aeruginosa* y otros microorganismos (Márquez, 2003).

Es de utilidad en la mayoría de los abscesos purulentos en los que se ven involucrados *Streptococcus* spp, *Staphylococcus* spp y *E. coli* (Sauer mann, 2005). Se usa además en la prevención y tratamiento de infecciones intraabdominales postquirúrgicas (Mura o, 1997; Andaker, 1987), en infecciones de heridas postquirúrgicas (Ortler, 2001), en infecciones intrapélvicas y uterinas (Cho, 1985; Takase, 1983), infecciones urinarias (Honderlick, 2006; Mazzei, 2006; Loram, 2004), infecciones gastroentéricas (Nakaya, 2003; Panos, 2006) y dermatológicas (Pérez, 1999). Los resultados *in vitro* obtenidos por Blacky et al. (2005) sugieren que la combinación de fosfomicina con amoxicilina o claritromicina pueden ser una alternativa en el tratamiento de *Helicobacter pylori*.

La fosfomicina está indicada, además, en el tratamiento perioperatorio en oftalmología y en pacientes con endoftalmitis (Kofler, 1986; Forestier, 1996).

Se ha utilizado sola o asociado a otros antibacterianos por vía endovenosa para tratar infecciones respiratorias causadas por *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. (Mirakhur et al., 2003; Berthelot, 1986)

Dados las indicaciones anteriores, es factible pensar que este antibacteriano pudiera ser útil en equinos para el tratamiento de problemas infecciosos en el sistema respiratorio (gurma, bronconeumonías, pleuroneumonías), infecciones del sistema gastrointestinal (diarreas, peritonitis), del aparato locomotor (osteomielitis, tenosinovitis, artritis sépticas), infecciones en neonatos (onfaloflebitis, septicemias, neumonías, artritis sépticas), del sistema nervioso central (meningitis, abscesos), del sistema genitourinario (cistitis, placentitis, metritis postparto, endometritis, mastitis), infecciones postquirúrgicas o traumáticas (celulitis y abscesos), infecciones dermatológicas y úlceras corneales, entre otros.

MATERIAL Y METODOS

En el Apéndice se presentan de manera esquemática las dos etapas de este trabajo. Se seleccionaron 10 caballos adultos (1 yegua de raza Pura Sangre Inglés y 9 caballos castrados de raza Cuarto de Milla) clínicamente sanos. Su edad fluctuó en un rango de 5 a 15 años y su peso corporal entre 450 a 550 kg. Los animales estuvieron alojados en las instalaciones de la Unidad Médico Veterinaria de la Policía Montada de la Secretaría de Seguridad Pública ubicada en la Av. Guelatao No. 100, Col. Alvaro Obregón, Del. Iztapalapa en México, DF con la misma alimentación, bajo el mismo régimen de medicina preventiva y con el mismo nivel de actividad física. Ninguno de los animales con los que se trabajó había recibido tratamiento antibiótico por lo menos durante 30 días antes de recibir la primera administración de fosfomicina disódica.

Etapas I

Determinación de la farmacocinética de fosfomicina disódica en equinos

Elaboración del preparado

Se disolvió fosfomicina disódica en forma de polvo estéril (Parfarm de México, SA) en agua inyectable estéril para preparar una solución al 10%, la cual fue destinada a ser aplicada por la vía endovenosa (IV). Adicionalmente se preparó otra solución similar, con la adición de lidocaína al 0.1% para ser destinada a la aplicación intramuscular (IM) y subcutánea (SC). La lidocaína se utilizó para minimizar el dolor en el sitio de la aplicación al momento de ser administrada.

Administración por vía endovenosa (IV) de 10 mg/kg

Se determinó el peso aproximado de cada uno de los caballos mediante una cinta que mide el perímetro torácico (Purina Mills USA)

Se aplicó una dosis de 10 mg/kg p.v. de la formulación acuosa de fosfomicina al 10% por vía endovenosa en la vena yugular a cada caballo.

Se colocó un catéter de calibre 18 x 1.5" (Becton Dickinson) en la vena yugular de cada caballo. Se tomaron muestras de 10 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante a los siguientes intervalos: 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 18 y 24 horas. Inmediatamente después de la colección, cada una de las muestras se centrifugó, se

recuperó el suero, se identificó y se congeló a -4°C hasta su análisis 5 días después.

Administración por vía intramuscular (IM) de 10 mg/kg

Se dejó pasar un periodo de 21 días de espera después de finalizada la etapa anterior

Se aplicó una dosis de 10 mg/kg p.v. de la formulación acuosa de fosfomicina al 10% con lidocaína al 0.1% por vía intramuscular en la tabla del cuello a cada caballo. Con el fin de disminuir variaciones debido al sitio de la aplicación, se dividió la dosis total en dos fracciones iguales y se administraron en cada lado del caballo.

Se colocó un catéter de calibre 18 x 1.5" (Becton Dickinson) en la vena yugular de cada caballo. Se tomaron muestras de 10 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante a los siguientes intervalos: 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 18 y 24 horas. Inmediatamente después de la colección, cada una de las muestras se centrifugó, se recuperó el suero, se identificó y se congeló a -4°C hasta su análisis 5 días después.

Administración por vía subcutánea (SC) de 10 mg/kg

Se dejó pasar un periodo de 21 días de espera después de finalizada la etapa anterior

Se aplicó una dosis de 10 mg/kg p.v. de la formulación acuosa de fosfomicina al 10% con lidocaína al 0.1% por vía subcutánea en la tabla del cuello a cada caballo. Con el fin de disminuir variaciones debido al sitio de la aplicación, se dividió la dosis total en dos fracciones iguales y se administraron en cada lado del caballo.

Se colocó un catéter de calibre 18 x 1.5" (Becton Dickinson) en la vena yugular de cada caballo. Se tomaron muestras de 10 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante a los siguientes intervalos: 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 18 y 24 horas. Inmediatamente después de la colección, cada una de las muestras se centrifugó, se recuperó el suero, se identificó y se congeló a -4°C hasta su análisis 5 días después.

Administración por vía endovenosa (IV) de 20 mg/kg

Se dejó pasar un periodo de 21 días de espera después de finalizada la etapa anterior

Se aplicó una dosis de 20 mg/kg p.v. de la formulación acuosa de fosfomicina al 10% por vía endovenosa en la vena yugular a cada caballo.

Se colocó un catéter de calibre 18 x 1.5" (Becton Dickinson) en la vena yugular de cada caballo. Se tomaron muestras de 10 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante a los

siguientes intervalos: 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 18 y 24 horas. Inmediatamente después de la colección, cada una de las muestras se centrifugó, se recuperó el suero, se identificó y se congeló a -4°C hasta su análisis 5 días después.

Administración por vía intramuscular (IM) de 20 mg/kg

Se dejó pasar un periodo de 21 días de espera después de finalizada la etapa anterior. Se aplicó una dosis de 20 mg/kg p.v. de la formulación acuosa de fosfomicina al 10% con lidocaína al 0.1% por vía intramuscular en la tabla del cuello a cada caballo. Con el fin de disminuir variaciones debido al sitio de la aplicación, se dividió la dosis total en dos fracciones iguales y se administraron en cada lado del caballo.

Se colocó un catéter de calibre 18 x 1.5" (Becton Dickinson) en la vena yugular de cada caballo. Se tomaron muestras de 10 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante a los siguientes intervalos: 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 18 y 24 horas. Inmediatamente después de la colección, cada una de las muestras se centrifugó, se recuperó el suero, se identificó y se congeló a -4°C hasta su análisis 5 días después.

Administración por vía subcutánea (SC) de una dosis de 20 mg/kg

Se dejó pasar un periodo de 21 días de espera después de finalizada la etapa anterior. Se aplicó una dosis de 20 mg/kg p.v. de la formulación acuosa de fosfomicina al 10% con lidocaína al 0.1% por vía subcutánea en la tabla del cuello a cada caballo. Con el fin de disminuir variaciones debido al sitio de la aplicación, se dividió la dosis total en dos fracciones iguales y se administraron en cada lado del caballo.

Se colocó un catéter de calibre 18 x 1.5" (Becton Dickinson) en la vena yugular de cada caballo. Se tomaron muestras de 10 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante a los siguientes intervalos: 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 18 y 24 horas. Inmediatamente después de la colección, cada una de las muestras se centrifugó, se recuperó el suero, se identificó y se congeló a -4°C hasta su análisis 5 días después.

Procesamiento de muestras

Determinación de la concentración sérica de fosfomicina

La concentración de fosfomicina disódica en cada muestra de suero fue determinada

mediante el análisis microbiológico cuantitativo/cualitativo descrito por Bennet et al. (1966). En él se mide la concentración en términos de la actividad antibacteriana *in vitro* del fármaco. A continuación se describe el proceso que se llevó al cabo.

a. Agar

El agar utilizado es Mueller Hinton (Merck) preparado a razón de 50 g/l, siguiendo las indicaciones que marca el producto.

b. Cultivo bacteriano

Se utiliza una cepa bacteriana ATCC (American Type Culture Collection) 19615 de *Streptococcus pyogenes*

c. Estándar bacteriano

En un tubo de tapón de rosca se colocan 5 ml de agua destilada y una asada del cultivo bacteriano joven (resembrado 24 horas antes) de *Streptococcus pyogenes*. Por medio de los estándares de Mc Farland¹ se realizan los ajustes necesarios a la dilución para obtener una concentración al 0.5 de Mc Farland.

La turbidez al 0.5 de Mc Farland se obtiene por medio de un espectrofotómetro a una transmitancia del 60-65%, la cual corresponde a una concentración bacteriana de 1×10^{14} .

d. Preparación de las placas

En un refractario estéril tipo Pirex® de 21 x 20 cm se colocan 300 ml de agar y se dejan enfriar durante 10 minutos. Sobre el agar ya frío se colocan 200 µl de la suspensión bacteriana y por medio de un hisopo estéril se distribuyen homogéneamente sobre el agar.

e. Preparación de las diluciones

Se pesan 20 mg de estándar de fosfomicina con un 98% de pureza (Parfarm de México). Se colocan en un vaso de precipitados y se aforan a 10 ml con agua desionizada. Se marcan 10 tubos de 5 ml del 1 al 7 y uno de 15 mililitros con el número 0. En el tubo

¹ BioMérieux

numerado con el 0 se colocan 9 ml de agua desionizada y en cada uno de los demás tubos se coloca 1 ml. Se toma 1 ml de la solución del vaso de precipitados y se coloca en el tubo 0. Se homogeniza. De este tubo se toma 1 ml y se agrega al tubo 1. Se homogeniza. Se toma 1 ml del tubo 1 y se agrega al tubo 2, así sucesivamente. Se continúa hasta completar los 7 tubos, teniendo finalmente las siguientes diluciones:

No.	Concentración (µg/ml)
Vaso de precipitados	2000
Tubo 0	200
Tubo 1	100
Tubo 2	50
Tubo 3	25
Tubo 4	12.5
Tubo 5	6.25
Tubo 6	3.125
Tubo 7	1.5625

f. Preparación de las placas

Una vez preparada la placa y con ayuda de un sacabocados se realizan a lo largo del refractario dos hileras de 10 pozos cada una. En cada pozo se colocan 100 µl de cada una de las diluciones, realizándose por duplicado. Se trabajan 5 placas en el mismo día con la misma metodología, con la finalidad de tener un total de 10 lecturas. Se incuban durante 24 horas a 37 °C. Después de transcurrido este periodo de tiempo se miden los halos de inhibición por pozo y por placa.

g. Procesamiento de las lecturas de los halos de inhibición

Se obtienen medias y desviaciones estándar del diámetro de halo de inhibición de cada una de las diluciones. Mediante los programas Microcal Origin 1.6 y Excel 2, se obtienen las gráficas de milímetros de halo de inhibición vs concentración.

² Microsoft Excel. 1985-97

Obtención de valores farmacocinéticos

El análisis farmacocinético se realizó mediante el análisis compartimental ingresando los valores de concentración sérica de fosfomicina obtenidos en la fase anterior al programa PK Analyst (5.1) (MicroMath Scientific Software Salt Lake City, Iowa, USA).

El análisis farmacocinético de los valores obtenidos después de la administración IV se obtuvo mediante el Modelo 1, que consiste en aplicación de un bolo endovenoso, sin periodo de aplazamiento, eliminación de primer orden, con un coeficiente de correlación $(r) \geq 0.96$ en todos los casos. Los valores obtenidos después de la administración IM y SC ($r \geq 0.96$) fueron analizados mediante el Modelo 3 (1 compartimento, sin tiempo de aplazamiento, eliminación de primer orden) con un coeficiente de correlación $(r) \geq 0.96$ en todos los casos. Ambos modelos son representados mediante las siguientes ecuaciones:

Modelo 1

$$\text{Concentración (Tiempo)} = Ae^{-\alpha \cdot \text{Tiempo}} + Be^{-\beta \cdot \text{Tiempo}}$$

Modelo 3

$$\text{Concentración (Tiempo)} = \frac{\text{Dosis} \cdot K_{AB}}{\text{Volumen} \cdot (K_{AB} - K_{elim})} \cdot e^{-K_{elim} \cdot \text{Tiempo}} - e^{-K_{AB} \cdot \text{Tiempo}}$$

Las variables farmacocinéticas determinadas para las dosis administradas por la vía IV fueron las siguientes: área bajo la curva (AUC), constante de eliminación (Kel), área bajo la curva en un momento determinado (AUMC), tiempo medio de residencia (MRT), concentración sérica al tiempo 0 (Cso), volumen aparente de distribución con base en el AUC (Vd_{AUC}), volumen aparente de distribución en el estado estable (Vd_{ss}) y depuración sistémica (CL_s). Los valores farmacocinéticos determinados para las dosis administradas por las vías IM y SC fueron los siguientes: constante de eliminación (Kel), vida media de absorción ($T_{1/2ab}$), concentración sérica máxima (Cmax), tiempo

para llegar a la Cmax (Tmax), área bajo la curva (AUC), constante de eliminación (Kel), area bajo la curva en un momento determinado (AUMC), tiempo medio de permanencia (MRT) y biodisponibilidad (F). Los datos fueron expresados como la media \pm desviación estándar (DS) de diez observaciones para cada parámetro y el análisis estadístico de las medias de los parámetros PK fue llevado al cabo mediante ANOVA y la prueba Bonferroni t utilizando el programa SAS System 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

Etapas II

Elaboración de dos preparados de liberación sostenida y larga acción (LS y LA) de fosfomicina acuosa al 10%

Se elaboraron varias preparaciones con fosfomicina disódica LS - LA al 10% en el Laboratorio de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (UNAM). Se incluyó el principio activo en poloxámero 407 o chitosan y β -ciclodextrina a diferentes concentraciones y lidocaína al 0.1%. Se dejaron las soluciones en reposo durante dos semanas y se escogieron dos preparados (A y B) con base en las características visuales de precipitación y estabilidad.

Pruebas de irritabilidad en animales de laboratorio

Se administraron las dos formulaciones elegidas por vía intramuscular a 5 ratas cada uno (1 ml administrado en la masa muscular formada por los músculos semitendinoso y semimembranoso). La irritación se evaluó mediante reconocimiento visual y palpación del tumor, rubor y dolor desde 24 hasta 72 horas después de la administración.

Administración por vía intramuscular (IM) de 10 mg/kg del preparado A

Se dejó pasar un periodo de 21 días de espera después de finalizada la etapa anterior. Se aplicó una dosis de 10 mg/kg p.v. del preparado A (LS-LA) de fosfomicina al 10% con lidocaína al 0.1% por vía intramuscular en la tabla del cuello a cada caballo. Con el fin de disminuir variaciones debido al sitio de la aplicación, se dividió la dosis total en

dos fracciones iguales y se administraron en cada lado del caballo.

Se colocó un catéter de calibre 18 x 1.5" (Becton Dickinson) en la vena yugular de cada caballo. Se tomaron muestras de 10 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante a los siguientes intervalos: 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 18 y 24 horas. Inmediatamente después de la colección, cada una de las muestras se centrifugó, se recuperó el suero, se identificó y se congeló a - 4°C hasta su análisis 5 días después.

Administración por vía intramuscular (IM) de 10 mg/kg del preparado B

Se dejó pasar un periodo de 21 días de espera después de finalizada la etapa anterior

Se aplicó una dosis de 10 mg/kg p.v. del preparado B (LS-LA) de fosfomicina al 10% con lidocaína al 0.1% por vía intramuscular en la tabla del cuello a cada caballo. Con el fin de disminuir variaciones debido al sitio de la aplicación, se dividió la dosis total en dos fracciones iguales y se administraron en cada lado del caballo.

Se colocó un catéter de calibre 18 x 1.5" (Becton Dickinson) en la vena yugular de cada caballo. Se tomaron muestras de 10 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante a los siguientes intervalos: 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 18 y 24 horas. Inmediatamente después de la colección, cada una de las muestras se centrifugó, se recuperó el suero, se identificó y se congeló a - 4°C hasta su análisis 5 días después.

Procesamiento de muestras

Determinación de la concentración sérica de fosfomicina

La concentración de fosfomicina disódica en cada muestra de suero fue determinada mediante el análisis microbiológico cuantitativo/cualitativo descrito por Bennet et al. (1966).

Obtención de valores farmacocinéticos

El análisis farmacocinético se realizó mediante el análisis compartimental ingresando los valores de concentración sérica de fosfomicina obtenidos en la fase anterior al programa PK Analyst (5.1) (MicroMath Scientific Software Salt Lake City, Iowa,

USA).

Los valores obtenidos después de la administración IM de ambos preparados ($r \geq 0.96$) fueron analizados mediante el Modelo 3 (1 compartimento, sin tiempo de aplazamiento, eliminación de primer orden) con un coeficiente de correlación ($r \geq 0.96$) en todos los casos. El modelo es representado mediante la siguiente ecuación:

Modelo 3

$$\text{Concentración (Tiempo)} = \frac{\text{Dosis} \cdot K_{AB}}{\text{Volumen } K_{AB} - K_{elim}} e^{-K_{elim} \cdot \text{Tiempo}} - e^{-K_{AB} \cdot \text{Tiempo}}$$

Los valores farmacocinéticos determinados para las dosis administradas por la vía IM fueron los siguientes: constante de eliminación (K_{el}), vida media de absorción ($T_{1/2ab}$), concentración sérica máxima (C_{max}), tiempo para llegar a la C_{max} (T_{max}), área bajo la curva (AUC), constante de eliminación (K_{el}), area bajo la curva en un momento determinado (AUMC), tiempo medio de permanencia (MRT) y biodisponibilidad (F). Los datos fueron expresados como la media \pm desviación estándar (DS) de diez observaciones para cada parámetro y el análisis estadístico de las medias de los parámetros PK fue llevado al cabo mediante ANOVA y la prueba Bonferroni t utilizando el programa SAS System 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

RESULTADOS

En las Figuras 1 y 2 se muestra la media de la concentración plasmática ± 1 DS (Log_{10}) de fosfomicina disódica después de la administración de 10 mg/kg y 20 mg/kg por vía IV, IM y SC del fármaco, respectivamente. En la Figura 3 se muestra la media de la concentración plasmática ± 1 DS (Log_{10}) de fosfomicina disódica después de la administración por vía intramuscular de una dosis de 10 mg/kg del Preparado A y del Preparado B, respectivamente. El cuadro 1 muestra los valores farmacocinéticos (PK) de fosfomicina después de la administración única de estas mismas dosis por vía IV, IM y SC de fosfomicina disódica y el cuadro 2 muestra los valores farmacocinéticos (PK) de fosfomicina después de la administración única de 10 mg/kg por vía intramuscular del preparado A y el preparado B.

El perfil de eliminación de fosfomicina administrada por vía IV, mostró un modelo de un compartimento, con una vida media de eliminación ($T_{1/2\beta}$) de 1.23 ± 0.08 h para la dosis de 10 mg/kg y de 1.34 ± 0.01 h para la dosis de 20 mg/kg.

A través del análisis estadístico de los datos a través del ANDEVA y la prueba de Bonferroni se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre las vidas medias de eliminación ($T_{1/2\beta}$) al comparar las diferentes rutas de administración. Sin embargo, no se encontró diferencia estadísticamente significativa de los valores encontrados entre las dos dosis administradas por la misma vía.

La vida media de absorción ($T_{1/2ab}$) y el tiempo medio de residencia (MRT) de la vía de administración SC fueron más elevadas ($P < 0.05$) que las encontradas para las vías IM e IV.

El AUC_{0-12} , AUC_{0-24} y AUMC de las dos dosis (10 y 20 mg/kg) administradas por vía SC fueron más elevadas ($P < 0.05$) que las administradas por vía IM, pero menores ($P < 0.05$) que las obtenidas al administrar el fármaco por vía IV.

La biodisponibilidad (F) después de la administración IM, calculada mediante los valores del AUC, fue de 38% y 58% para 10 mg/kg y 20 mg/kg, respectivamente. La biodisponibilidad calculada después de la administración SC fue más elevada ($P < 0.05$) para ambas dosis (84% y 85% para 10 mg/kg y 20 mg/kg, respectivamente).

Los valores de T_{max} y C_{max} mostraron diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$), tanto cuando se compararon las vías de administración como cuando se compararon las dos dosis administradas por la misma vía ($P < 0.05$ en todos los casos).

DISCUSION

La fosfomicina ha sido utilizada en países europeos para el tratamiento de infecciones bacterianas en humanos, tales como pielonefritis aguda y cistitis (Bayrak, 2006), infecciones obstétricas y ginecológicas (Cho, 1985), otitis y otras infecciones otorrinolaringológicas (Deguchi et al., 1995), endoftalmitis (Kofler, 1986), celulitis e infecciones en pie diabético (Legat et al., 2003; Stengel, 2005), infecciones respiratorias (Mirakhor et al., 2003; Berthelot, 1983), infecciones en el sistema nervioso central (Ribes, 2006; Nau, 1995) y abscesos intracraniales (Brunner, 2002), peritonitis (Michel et al., 1989) así como osteomielitis y artritis sépticas (Marques, 2003; Stricker, 2005).

En la actualidad su uso en Medicina Veterinaria es limitado. Existe experiencia documentada de su uso en pollo de engorda para el tratamiento de infecciones causadas por *Escherichia coli* y *Salmonella* spp (Fernández et al., 2001; Fernández et al., 1998) y se ha demostrado la sensibilidad de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Pastereulla multocida* en cerdos a la fosfomicina (Williams et al., 2001). Se han descrito valores farmacocinéticos en pollos (Hernández et al., 2001), conejos (Fernández Lastra et al., 1987), bovinos (Sumano et al., 2007) y perros (Gutiérrez et al., 2007). No existe información documentada de la farmacocinética de este fármaco en equinos.

Se escogieron las dosis de 10 mg/kg y 20 mg/kg para utilizar el volumen inyectable más pequeño posible de una solución de fosfomicina dosódica al 10% (50 ml y 100 ml para un caballo de 500 kg) y también para evitar irritación y dolor locales, aún con la inclusión de lidocaína al 0.1%. Se escogió además, una dosis baja para minimizar los posibles efectos adversos en el tracto gastrointestinal (Baverud et al., 1997) y en el tejido muscular (Vengust, 2002), frecuentemente asociados con el uso de antimicrobianos en caballos.

La dosis de 10 mg/kg es menor que la utilizada en bovinos (20 mg/kg) (Sumano et al., 2007) y perros (40 y 80 mg/kg) (Gutiérrez et al., 2007) y ciertamente menor que la utilizada en humanos (30 a 100 mg/kg) (Segre et al., 1987; Nakamara, 1985). Sin embargo existe el antecedente de Aramayona et al. (1997), autores que definieron la farmacocinética de una dosis endovenosa única de 10 mg/kg en pollos y Fernández et al. (2002) reportó una buena eficacia clínica en pollos infectados con *E. coli* utilizando

una dosis de 10 mg/kg.

El pH de la solución de fosfomicina disódica utilizada para la administración IV fue de 12, el cual es el límite aceptado para su uso por esta vía en humanos (Strickley 2004). Las soluciones que fueron administradas por la vía IM y SC registraron un pH de 9, que se encuentra, a su vez, en el límite aceptado para la administración por esta vía (Strickley, 2004). Teniendo en consideración que los caballos tienden a ser más susceptibles al daño muscular causado por inyecciones múltiples que otras especies, se requieren más estudios para evaluar este daño por la administración IM de fosfomicina disódica. No se ha informado de ninguna interacción *in vitro* de la fosfomicina disódica y la lidocaína al 0.1% utilizando métodos microbiológicos (Segre et al., 1987; Nakamura, 1985; Vecchio et al., 2001; Sumano et al., 2007; Gutiérrez et al., 2007). Las preparaciones utilizadas para el uso IM en humanos contienen lidocaína, mientras que las que se aplican por vía IV carecen de ella. Sin embargo, pudieran llevarse a cabo estudios farmacocinéticos comparativos de fosfomicina con y sin lidocaína en caballos para descartar que haya cambios significativos. En este estudio no se observó irritación local ni dolor en ninguno de los caballos a los que se inyectó la fosfomicina por vía IM y SC.

La biodisponibilidad de la administración IM fue de 38% y 58%, valores menores que los reportados por Sumano et al. (2007) en bovinos después de la administración de 20 mg/kg (74%) y similar a la reportada por Gutiérrez et al. (2007) en perros después de la administración de 40 mg/kg, pero más elevada que la mencionada por los mismos autores después de inyectar 80 mg/kg por la misma vía. La biodisponibilidad de la administración SC fue más elevada que la obtenida a través de la administración IM, con valores de 84 % y 86 % para las dosis de 10 mg/kg y 20 mg/kg, respectivamente. Estos valores son similares a los reportados para la misma vía en perros, los cuales fueron 84% para la dosis de 40 mg/kg y 85% para la dosis de 80 mg/kg (Gutiérrez et al., 2007). Se sabe que los caballos tienen una mayor susceptibilidad a la necrosis muscular después de cualquier inyección por vía IM, lo cual pudiera explicar la menor biodisponibilidad encontrada a través de esta vía.

El volumen de distribución aparente del área bajo la curva (V_{dAUC}) encontrado en estos

caballos fue de 215.0 ± 4.0 mL/kg para la dosis de 10 mg/kg por vía IV y 220.0 ± 3.0 mL/kg para la dosis de 20 mg/kg por la misma vía. Estos valores fueron mucho menores que los encontrados en ganado bovino por Sumano et al. (2007) ($Vd_{AUC} = 673.0 \pm 27.0$ mL/kg) al administrar 20 mg/kg por vía IV.

Sumano et al. (2007) informaron una vida media de eliminación corta $T_{1/2\beta}$ (1.33 ± 0.3 h para la vía IV y 2.17 ± 0.4 h para la vía IM) y una depuración total rápida (11.2 ± 1.2 mL/kg/h) para la dosis de 20 mg/kg en bovinos. En caballos la vida media de eliminación encontrada en este trabajo para la vía IV fue de 1.23 ± 0.08 h para 10 mg/kg y 1.34 ± 0.01 h para 20 mg/kg; y para la vía IM fue de 1.54 ± 0.07 h para 10 mg/kg y 1.57 ± 0.02 h para 20 mg/kg. Se obtuvo una depuración total (CL_B) rápida (16.0 ± 0.6 mL/kg/h para 10 mg/kg y 24.0 ± 1.0 mL/kg/h para 20 mg/kg).

Se han establecido concentraciones mínimas inhibitorias (CMI_{90}) de fosfomicina para *Streptococcus* spp de $0.25 \mu\text{g/mL}$ (Fernández et al., 1995). Si se considera la relación del porcentaje de tiempo que la concentración sérica permanece más elevada que la CMI ($\% T > CMI$) como la variable para determinar un intervalo de dosificación para fosfomicina, un antimicrobiano tiempo-dependiente (McKellar et al., 2004) y se considera una MIC de $1 \mu\text{g/mL}$, se puede decir que la administración SC de 20 mg/kg permite la obtención de niveles terapéuticos hasta por 10 horas. Esta afirmación coincide con la mejor vía de administración propuesta para humanos (Cree et al., 2007) y en perros (Gutiérrez et al., 2007), que es la inyección SC. Otra relación farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD) aceptada para predecir la eficacia clínica de algunos antimicrobianos tiempo-dependientes es la relación del área bajo la curva de 0 a 24 horas dividida entre la CMI_{90} (AUC_{0-24}/CMI_{90}) (Ailani et al., 1999; Burgess et al., 2006). La relación AUC_{0-24}/CMI_{90} reportada para macrólidos y tetraciclinas, por ejemplo, es ≥ 25 . La AUC_{0-12} para fosfomicina en humanos después de una dosis de 8 g por vía IV informada por Gattringer (2006) es 2159.4 ± 609.8 . Este valor permitió a los autores a recomendar un intervalo de dosificación de 12 horas. En equinos no se ha sugerido un valor ideal del AUC ni de la relación AUC_{0-12}/CMI_{90} . Por lo tanto, los valores de AUC_{0-12} obtenidos en este estudio mediante el método trapezoidal después de la administración SC de fosfomicina disódica, pueden ser considerados como los primeros antecedentes (249.0 ± 8.0 y 315.0 ± 9.0 después de administrar 10 mg/kg y 20

mg/kg, respectivamente). Si se tiene que tratar una infección causada por una bacteria sensible a la fosfomicina, como *Streptococcus* spp y se toma en consideración la relación AUC_{0-12}/CMI_{90} , se obtienen valores de 996 para la dosis de 10 mg/kg y 1260 para la dosis de 20 mg/kg por la vía SC. Estos valores son lo suficientemente altos para sugerir una buena eficacia *in vivo*. Sin embargo, si se requiere el tratamiento de una bacteria menos sensible ($CMI_{90} = 16 \mu\text{g/mL}$) (Gobernado, 2003), la relación AUC_{0-12}/CMI_{90} disminuye a 15 para la dosis de 10 mg/kg y 19 para la dosis de 20 mg/kg aplicada por vía SC y la eficacia clínica pudiera verse disminuida, a su vez. Aún cuando pareciera que la mejor ruta de administración de la fosfomicina disódica en caballos es la subcutánea, si se consideran los bajos valores del volumen de distribución del área bajo la curva (Vd_{AUC}) y del volumen de distribución aparente en el estado estable (Vd_{SS}) encontrados en este estudio, la corta vida media de eliminación ($T_{1/2\beta}$) y el aumento linear en las concentraciones séricas vs tiempo con la dosis administrada (Fernández Lastra, 1987), deben administrarse dosis más elevadas para aumentar la relación AUC_{0-12}/CMI_{90} para bacterias resistentes. Además, debido al hecho que los caballos son más susceptibles a irritaciones tisulares severas después de inyecciones repetidas (Brielle, 2004) es necesario disminuir el volumen a inyectar y aumentar el intervalo de dosificación si se utilizan las vías IM y SC. Por lo tanto, sería de utilidad contar con una solución de fosfomicina disódica con mayor concentración (20%). Concluimos que se obtendrán mejores valores farmacocinéticos de fosfomicina si se administra una solución de este fármaco al 20% en un sistema de polímeros biodegradables de liberación sostenida. La fosfomicina ha demostrado tener además un efecto inmunomodulador, consistente en el aumento de la habilidad bactericida de los neutrófilos (Krause et al., 2001) y una supresión en la respuesta inflamatoria (Morikawa et al., 2003). Estos hechos, aunados al efecto sinérgico y aditivo de la fosfomicina con otros antimicrobianos (Pruekprassert, 2005; Tessier, 1997) deben ser tomados en cuenta antes de hacer recomendaciones prácticas para el clínico en equinos. Además, debido a los efectos negativos severos que algunos antimicrobianos han demostrado ejercer sobre la microflora intestinal en caballos (Gustafsson, 1997) y la susceptibilidad de la especie a la irritación y necrosis muscular, deben llevarse a cabo más estudios de seguridad y toxicidad. Sin embargo, es importante mencionar que ninguno de los animales experimentales en este estudio no mostraron ninguna alteración aparente en el tracto

gastrointestinal o en el tejido muscular, lo cual coincide con el hecho de que la fosfomicina es considerada un fármaco con pocos efectos tóxicos en las especies hasta ahora estudiadas.

REFERENCIAS

- Aramayona, J. J., Bregante, M., Solans, C., Rueda, S., Fraile, L. J., García, M. A. (1997) Pharmacokinetics of fosfomicin in chickens after a single intravenous dose and tissue levels following chronic oral administration. *Vet Res*, **28** (6), 581-588.
- Barry, A.L., Brown, S.D (1995) Antibacterial spectrum of fosfomicin trometamol. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **35** (1), 228-230.
- Baverud, V., Gustafsson, A., Franklin, A., Lindholm, A., Gunnarsson, A. (1997) *Clostridium difficile* associated with acute colitis in mature horses treated with antibiotics. *Equine Vet J*, **29** (4), 279-284.
- Bayrak, O., (2006) Is a single-dose fosfomicin trometamol a good alternative for asymptomatic bacteriuria in the second trimester of pregnancy. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*, **29**, 521-524.
- Bennett, J.V., Brodie, J., Benner, E., Kirby, W. (1966) Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. *Appl Microbiol*, **14** (2), 170-177.
- Bergan, T. (1990) Pharmacokinetic parameters and characteristics relevant to antimicrobial surgical prophylaxis. *Scand J Infect Dis Suppl*, **70**, 31-35.
- Bergogne-Berezin, E., Kafe, H., Daumal, M., Gillon, J.C., Bergan, T. (1983) Penetration of fosfomicin into bronchial secretions. *Pathol Biol*, **31** (6), 519-521.
- Brunner, M., Reinprecht, A., Illievich, U., Spiss, C. K., Dietrich, K., Houte van, M., Müller, M. (2002) Penetration of fosfomicin into the parenchyma of human brain: a case study in three patients. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **54** (5), 548 – 551.
- Burgess, D.S., Frei, C. R., Lewis, J. A., Fiebelkorn, K. R., Jorgensen, J. H. (200) The contribution of pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling with Monte Carlo simulation to the development of susceptibility breakpoints for *Neisseria meningitidis*
- Cho, N., Sekiya, M., Chin, I., Fukunaga, K., Kunii, K. (1985) Fundamental and clinical studies on fosfomicin sodium in the field of obstetrics and gynecology. *Jpn J Antibiot*, **38** (8), 2045-2056.
- Cree, M., Stacey, S., Graham, N., Wainwright, C. (2006) Fosfomicin - Investigation of a possible new route of administration of an old drug A case study. *JCyst Fibros*, **6**, 244-246.
- Deguchi, K. (1995) Antibacterial activities of fosfomicin against recent clinical isolates from patients of otitis media and otitis externa. *Jpn J Antibiot*, **48** (2), 293-298.
- Fernández, A., Lara, C., Loste, A., Calvo, S., Marca, M. (2001) Control of *Salmonella enteritidis* phage type 4 experimental infection by fosfomicin in newly hatched chicks. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, **24** (4), 207-216.

- Fernández, A., Lara, C., Loste, A., Marca, M.(2002) Efficacy of calcium fosfomycin for the treatment of experimental infections of broiler chickens with *Escherichia coli* O78:K80. *Vet Res Commun*, **26**(6), 427-436.
- Fernandez, A., EffiPayuelo, R., Gómez, J., Ramos, J., Loste, A., Marca, M.(1998) Efficacy of phosphomycin in the control of *Escherichia coli* infection of broiler chickens. *Res Vet Sci* , **65** (3), 201-204.
- Fernandez Lastra, C., Marino, E.L., Dominguez-Gil, A. (1986) Linearity of the pharmacokinetics of phosphomycin in serum and interstitial tissue fluid in rabbits. *Arzneimittelforschung* , **36**(10), 1518-1520.
- Fernandez Lastra, C., Marino, E.L., Dominguez-Gil, A. (1987) Phosphomycin levels in serum and interstitial tissue fluid in a multiple dosage regimen in rabbits. *Arzneimittelforschung* , **37** (8), 927-929.
- Gattringer, R., Meyer, B., Heinz, G., Guttman, C. (2006) Single-dose pharmacokinetics of fosfomycin during continuous venovenous haemofiltration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **58**, 367-371.
- Gialdroni, G., (1990) Fosfomycin trometamol: Historical background and clinical development. *Infection*, **18**, 57-59.
- Gobernado, M.(2003) Fosfomicina. *Rev Esp Quimioterap* , **16**, 15-40.
- Goto, M., Nakajima S, Yamashina H. (1981) Fosfomycin kinetics after intravenous and oral administration to human volunteers. *Antimicrob Agents Chemother*, **20**, 393-397.
- Gutiérrez, O.L., Ocampo, C. L., Aguilera, J. R., Luna, J., Sumano, L. H. (2007) Pharmacokinetics of disodium-fosfomycin in mongrel dogs. *Research in Veterinary Science*, [Epub ahead of print]
- Gustafsson, A. (2004) Antibiotic induced diarrhea in horses, with special reference to *Clostridium difficile*, in Department of Large Animal Clinical Sciences. Swedish University of Agricultural Sciences: Uppsala. 59.
- Gustafsson A, B.V., Gunnarsson, A., Rantzien, M.H., Lindholm, A., Franklin., A. (1997) The association of erythromycin ethylsuccinate with acute colitis in horses in Sweden. *Equine Vet J.*, **29**(4), 314-318.
- Joukhadar, C., Klein, N., Dittrich, P., Zeitlinger, M., Gkekppert A., Skhirtladze, K. (2003) Target site penetration of fosfomycin in critically ill patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* , **51**(5), 1247-1252.
- Kirby, W., (1977) Pharmacokinetics of fosfomycin. *Chemotherapy* , **23**(Suppl 1), 141-151
- Kofler, J.W. (1986) Studies of the penetrating ability of fosfomycin into the aqueous humor and vitreous body of the eye. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, **18**(3): 240-242.

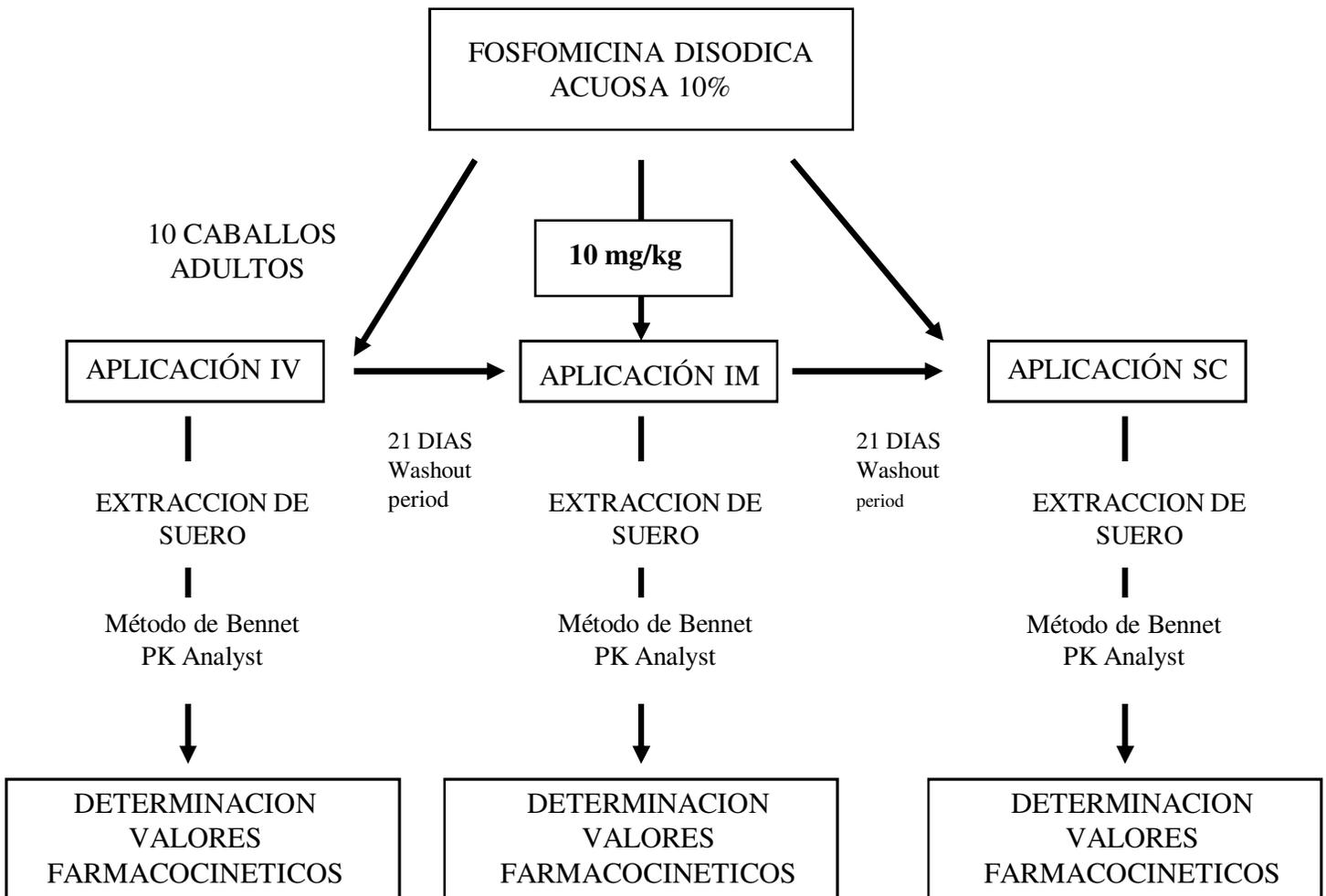
- Krause, R., Patruta, S., Daxböck, F., Fladerer, P., Wenisch, C. (2001) The effect of fosfomicin on neutrophil function. *J Antimicrob Chemother*, **47**(2): 141-146.
- Kuemmerle, H., Murakawa T, De Santis F. (1987) Pharmacokinetic evaluation of fosmidomycin, a new phosphonic acid antibiotic. *Chemioterapia*, **6**(2), 113-119.
- Legat, F.J. (2003) Penetration of fosfomicin into inflammatory lesions in patients with cellulitis or diabetic foot syndrome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **47**(1): 371-374.
- Marques, F.A., (2003) Terapéutica Experimental de Osteomielitis por *Pseudomonas aeruginosa*: estudio de fosfomicina. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid
- Mazzei, T.C., Fallania, S., Arriguccia, S., Novellia, A. (2006) Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of antimicrobial agents for the treatment of uncomplicated urinary tract infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **28** (Suppl 1), 35-41.
- McKellar, Q. A., Sanchez Bruni, S. F., Jones, D. G. (2004) Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther.* **27** (6), 503-514.
- Michel, C.V., Delisle, F., Lependoven, C., Mignon, F., (1989) Treatment of peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis with a combination of fosfomicin and pefloxacin. *Pathol Biol*, **37**(4), 269- 271.
- Mirakhur A. (2003) Fosfomicin therapy for multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, **2**(1), 19-24.
- Nakazawa, H. (2003) Enhancement of antimicrobial effects of various antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by combination with fosfomicin. *J Infect Chemother*; **9**(4), 304-309.
- Nau, R., (1995) Activity of fosfomicin in a rabbit model of experimental pneumococcal meningitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **36**(6), 997-1004.
- Paape, M.J., Miller, R.H., Ziv, G. (1981) Pharmacologic enhancement or suppression of phagocytosis by bovine neutrophils. *Am J Vet Res*, **52**(2), 363-366.
- Patel, S.S., Balfour, J.A., Bryson H.M. (1997) Fosfomicin tromethamine. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy as a single-dose oral treatment for acute uncomplicated lower urinary tract infections. *Drugs*, **53**(4), 637-656.
- Pfausler, B. (2004). Concentrations of fosfomicin in the cerebrospinal fluid of neurointensive care patients with ventriculostomy-associated ventriculitis. *J Antimicrob Chemother*, **53** (5), 848-852.

- Pruekprasert, K.S. (2005) *In vitro* activity of fosfomycin-gentamicin, fosfomycin-ceftazidime, fosfomycin-imipenem and ceftazidime-gentamicin combinations against ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, **36**(5), 1239-1242.
- Ribes, S., (2006) Evaluation of fosfomycin alone and in combination with ceftriaxone or vancomycin in an experimental model of meningitis caused by two strains of cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* , **57**(5), 931-936.
- Rudenko, N., Dorofeyev, A. (2005) Prevention of recurrent lower urinary tract infections by long-term administration of fosfomycin trometamol. Double blind, randomized, parallel group, placebo controlled study. *Arzneimittelforschung* , **55** (7), 420-427.
- Sauermann, R. (2005) Antibiotic abscess penetration: Fosfomycin levels measured in pus and simulated concentration-time profiles. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **49**(11), 4448-4454.
- Schito, G. (2003) Why fosfomycin trometamol as first line therapy for uncomplicated UTI? *Int J Antimicrob Agents* , **22**, 79-83.
- Segre, G., Bianchi, E., Cataldi, A., Zannini, G. (1987) Pharmacokinetic profile of fosfomycin trometamol (Monuril). *Eur Urol* , **13** (Suppl 1), 56-63
- Singhvi, S. M., Heald, A. F., Gadekbusch, H. H., Resnick, M.E., Ditazio, L. T., Leitz, M. A. (1977) Human serum protein binding of cephalosporin antibiotics *in vitro*. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **89**, 414-420.
- Stengel, D. (2005) Second-line treatment of limb-threatening diabetic foot infections with intravenous fosfomycin. *J Chemother*, **17** (5), 527-535.
- Stricker, T., Fröhlich, S. Nadal, D. (1998) Osteomyelitis and septic arthritis due to *Citrobacter freundii* and *Haemophilus influenzae* type b. *Journal of Paediatrics and Child Health*, **34**(1), 90.
- Strickley, R.G. (2004) Solubilizing excipients in oral and injectable formulations. *Pharm Res*, **21**(2), 201-230.
- Sumano, L.H, Ocampo, C. L., Gutiérrez, O.L. (2007) Intravenous and intramuscular pharmacokinetics of a single-daily dose of disodium fosfomycin in cattle, administered for three days. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **30**, 49-54.
- Vecchio, S., Rodante, F., Tomassetti, M. (2001) Thermal stability of disodium and calcium phosphomycin and the effects of the excipients evaluated by thermal analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* , **24**(5), 1111-1123.
- Vengust, M., Arroyo, L. G., Weese, J. S., Staempfli, H. R., Baird, J. D. (2002) Clostridial myositis: Evaluation of normal equine skeletal muscle for the presence of clostridial spores in AAEP Proceedings, 543 – 546.

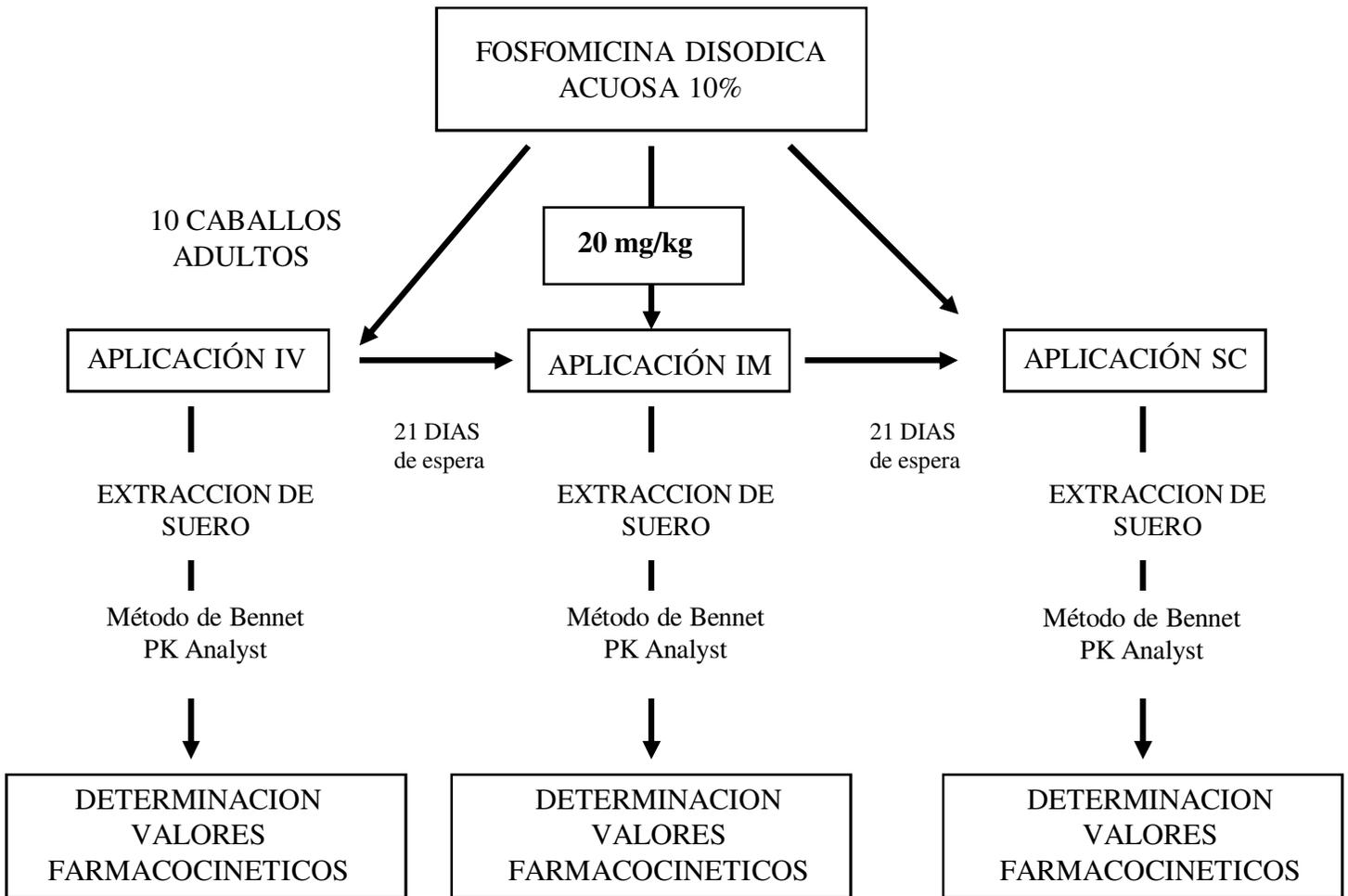
Williams, J.J. (2001) Sensibilidad *in vitro* de cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Pasteurella multocida* tipo "a" ante diferentes antimicrobianos. *Revista Biomed* 2001; **12**(3), 172-179.

Zeitlinger, M.A., Sauermann, R., Traunmüller, F., Georgopoulos, A., Müller, M., Joukhadar, C. (2004) Impact of plasma protein binding on antimicrobial activity using time-killing curves. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **54**, 876-880.

APENDICE 1
Esquema experimental
ETAPA I



ETAPA I



ETAPA II

ELABORACION VARIOS PREPARADOS
LS – LA
FOSFOMICINA DISODICA
ACUOSA 10%

CHITOSAN
POLOXAMERO
 β CICLODEXTRINA



ELECCION DE 2 PROTOTIPOS
PREPARADO LS – LA
FOSFOMICINA DISODICA
ACUOSA 10%



Pruebas de irritabilidad en animales de
laboratorio



Administración 10 mg/kg por vía IM en
10 caballos sanos

ETAPA III

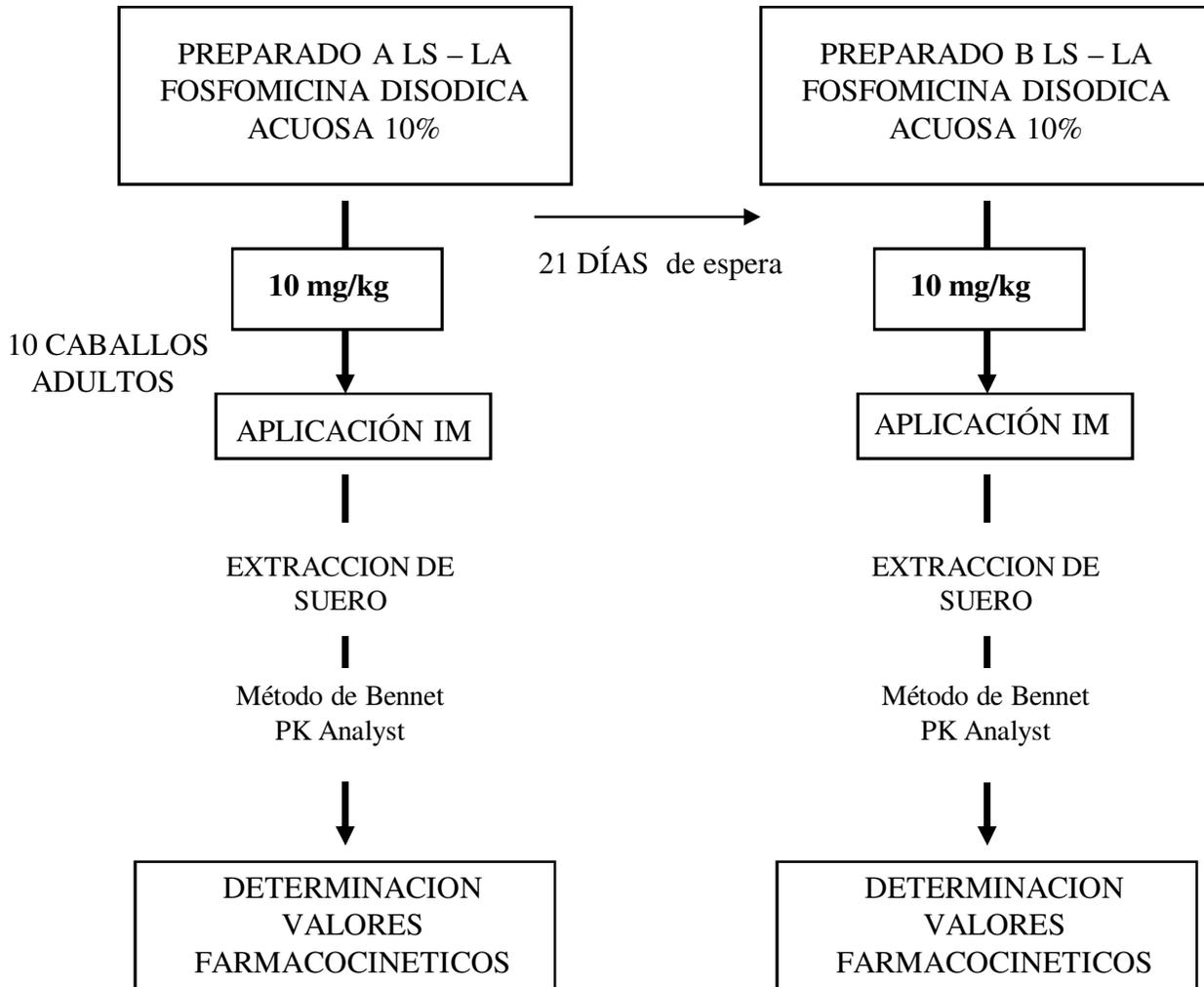


Tabla 1.
Valores farmacocinéticos calculados de fosfomicina mediante el análisis compartimental después de la administración única de 10 y 20 mg/kg de fosfomicina disódica

	IV Promedio ± DS		IM Promedio ± DS		SC Promedio ± DS	
	10 mg/kg	20 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
AUC ₀₋₂₄ (µg h/mL)	310.0 ^a ± 12.0	415.0 ^b ± 15.0	119.0 ^c ± 3.0	243.0 ^d ± 9.0	262.0 ^e ± 4.0	358.0 ^f ± 11.0
AUC ₀₋₁₂ (µg h/mL)	307.0 ^a ± 8.0	410.0 ^b ± 10.0	115.0 ^c ± 4.0	224.0 ^d ± 7.0	249.0 ^e ± 8.0	315.0 ^a ± 9.0
AUMC (µg h ² /mL)	1022.0 ^a ± 42.0	1354.0 ^b ± 31.0	589.0 ^c ± 19.0	735.0 ^d ± 21.0	278.0 ^e ± 8.0	527.0 ^c ± 13.0
MRT (h)	1.0 ^a ± 0.03	1.27 ^a ± 0.01	2.23 ^b ± 0.07	2.37 ^b ± 0.09	4.95 ^c ± 0.02	5.0 ^c ± 0.012
β (µg/mL h)	0.31 ^a ± 0.06	0.31 ^a ± 0.02	0.24 ^a ± 0.04	0.24 ^a ± 0.03	0.20 ^a ± 0.01	0.20 ^a ± 0.05
T _{½ ab} (h)	-	-	0.44 ^a ± 0.1	0.42 ^a ± 0.03	0.70 ^b ± 0.14	0.70 ^b ± 0.12
T _{½ β} (h)	1.23 ^a ± 0.08	1.34 ^{ab} ± 0.01	1.54 ^{cb} ± 0.07	1.57 ^b ± 0.02	3.43 ^d ± 0.08	3.46 ^d ± 0.1
K _{el} (h ⁻¹)	0.5 ± 0.03	0.6 ± 0.04	-	--	-	-
Vd _{AUC} (mL/kg)	215.0 ± 4.0	220.0 ± 3.0				
Vd _{ss} (mL/kg)	206.0 ± 2.0	210.0 ± 4.0				
C _{s0} (µg/mL)	112.0 ^a ± 1.0	201.0 ^b ± 1.0				
C _{max} (µg/mL)	-	-	24.0 ^a ± 1.0	46.0 ^b ± 2.0	56.0 ^c ± 2.0	72.0 ^d ± 3.0
T _{max} (h)	-	-	2.37 ^a ± 0.03	2.46 ^a ± 0.05	3.32 ^b ± 0.45	3.24 ^b ± 0.08
CL _B (mL/kg h)	16.0 ^a ± 0.6	24.0 ^b ± 1.0				
F (%)	-		38%	58%	84%	86%

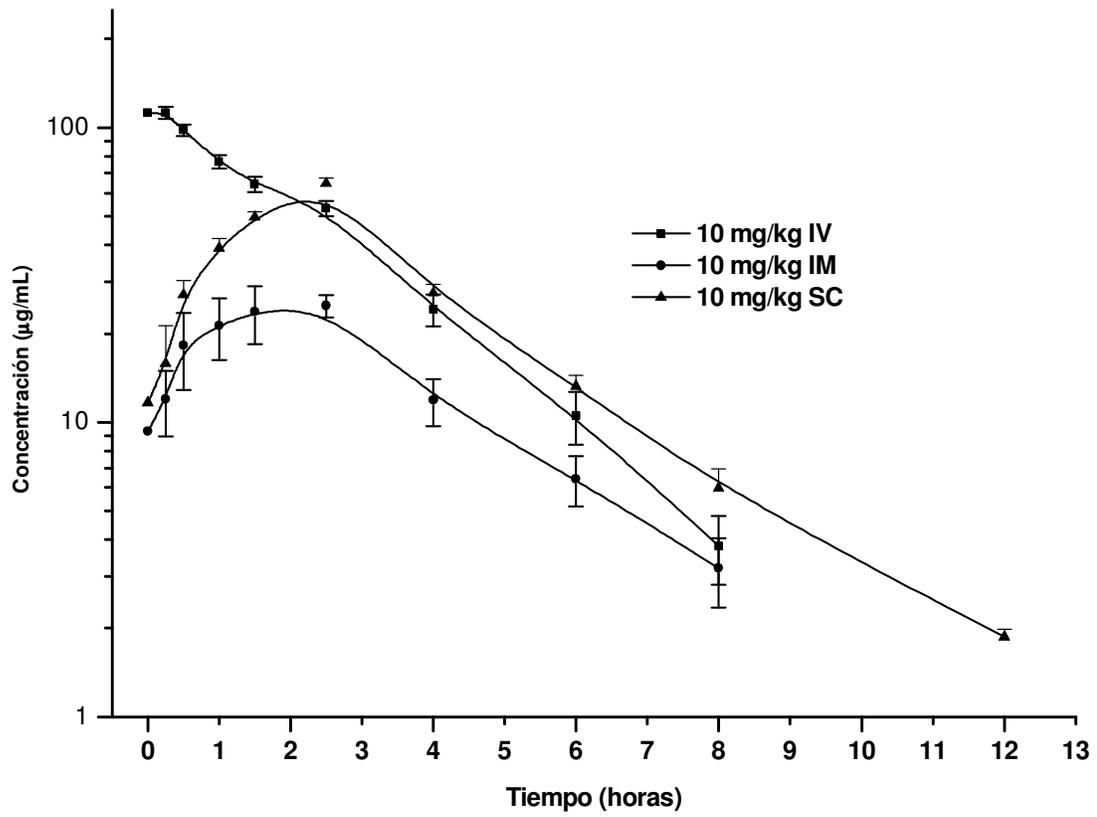
^{a-f} Los valores en la misma fila con diferentes superíndices tienen diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05)

AUC₀₋₂₄ = Área bajo la curva del tiempo 0 a 24 h; AUC₀₋₁₂ = Área bajo la curva del tiempo 0 a 12 h; AUMC = Área bajo la curva en un momento determinado; MRT = retention time; β = constante híbrida del ángulo de distribución-eliminación; K_{el} = Constante de eliminación del compartimiento central; T_{½ ab} = Vida media de la fase de absorción; T_{½ β} = Vida media de eliminación; Vd_{ss} = Volumen de distribución aparente en el estado estable; Vd_{AUC} = Volumen de distribución aparente de área ó AUC; C_{s0} = Concentración sérica teórica al tiempo 0; C_{max} = Concentración plasmática máxima teórica; T_{max} = Tiempo de concentración plasmática máxima; CL_B = Depuración total; F = Biodisponibilidad

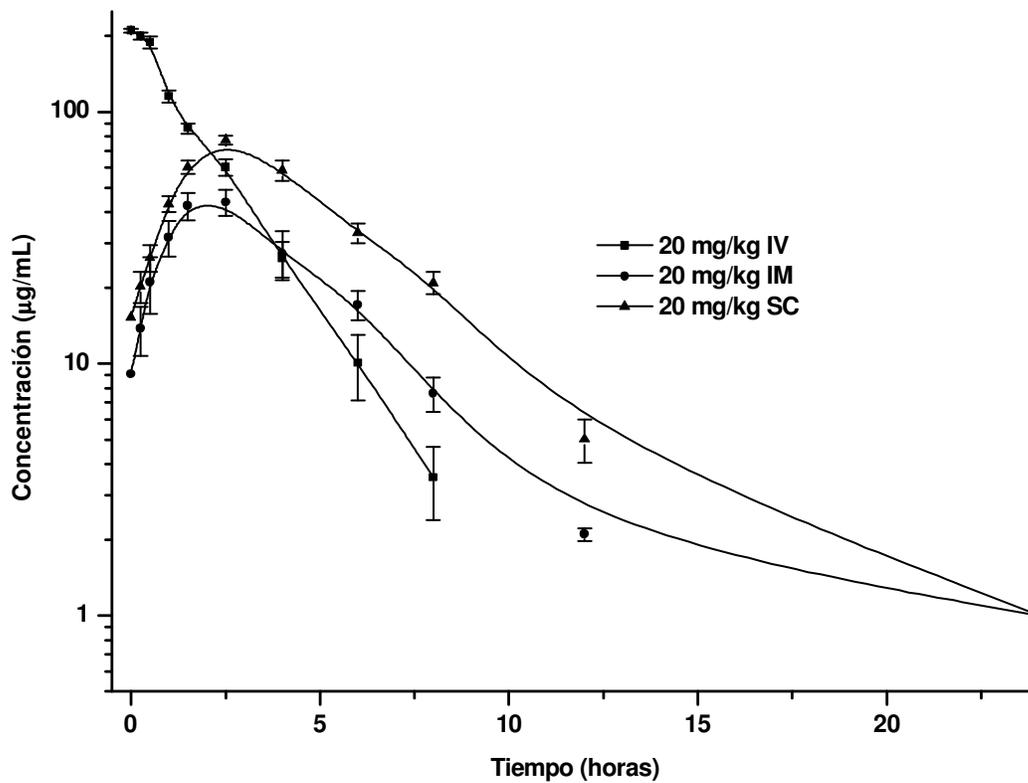
Tabla 2.
Valores farmacocinéticos calculados de fosfomicina mediante el análisis compartimental después de la administración única de 10 mg/kg de los preparados A y B de liberación sostenida y larga acción (LS-LA)

	IM Promedio \pm DS	
	Preparado A	Preparado B
AUC ₀₋₂₄ ($\mu\text{g h/mL}$)	210.9 ^a \pm 5.0	242.0 ^b \pm 6.0
AUC ₀₋₁₂ ($\mu\text{g h/mL}$)	202.0 ^a \pm 3.0	230.0 ^b \pm 3.0
AUMC ($\mu\text{g h}^2/\text{mL}$)	1493.0 ^a \pm 32.0	1050.0 ^b \pm 31.0
MRT (h)	7.0 ^a \pm 0.1	4.33 ^a \pm 0.01
β ($\mu\text{g/mL h}$)	0.31 ^a \pm 0.06	0.31 ^a \pm 0.02
T _{1/2 ab} (h)	0.44 ^a \pm 0.1	-
T _{1/2 β} (h)	4.51 ^a \pm 0.1	4.9 ^a \pm 0.01
K _{el} (h ⁻¹)	-	-
Vd _{AUC} (mL/kg)	-	-
Vd _{ss} (mL/kg)	-	-
C _{S0} ($\mu\text{g/mL}$)	-	-
C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	56.14 \pm 0.02	72.14 ^b \pm 1.0
T _{max} (h)	1.15 ^a \pm 0.02	1.53 ^b \pm 0.01
CL _B (mL/kg h)	-	-
F (%)	84%	86%

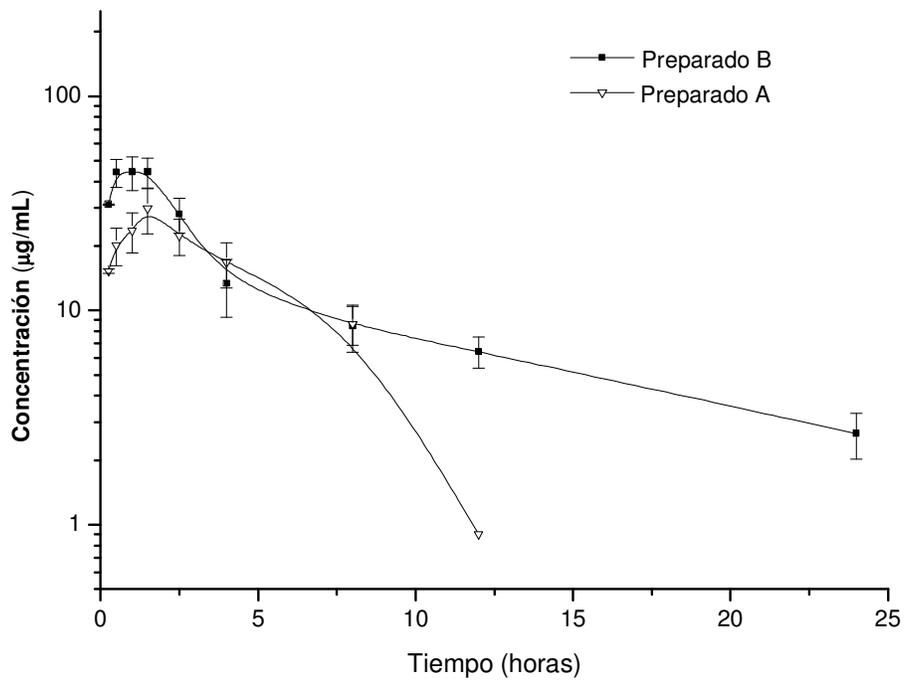
^{a-f} Los valores en la misma fila con diferentes superíndices tienen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$)
AUC₀₋₂₄=Área bajo la curva del tiempo 0 a 24 h; AUC₀₋₁₂ = Área bajo la curva del tiempo 0 a 12 h ; AUMC = Área bajo la curva en un momento determinado; MRT = retention time; β = constante híbrida del ángulo de distribución-eliminación;
K_{el} = Constante de eliminación del compartimiento central; T_{1/2 ab} = Vida media de la fase de absorción; T_{1/2 β} = Vida media de eliminación; Vd_{ss} = Volumen de distribución aparente en el estado estable; Vd_{AUC} = Volumen de distribución aparente de área ó AUC;
C_{so} = Concentración sérica teórica al tiempo 0; C_{max} = Concentración plasmática máxima teórica; T_{max} = Tiempo de concentración plasmática máxima; CL_B = Depuración total; F = Biodisponibilidad



Cuadro 1. Promedio \pm SD de la relación concentración plasmática/tiempo (Log_{10}) de fosfomicina después de la administración única por vía IV, IM y SC de una dosis de 10 mg/kg de fosfomicina disódica en caballos



Cuadro 2. Promedio \pm SD de la relación concentración plasmática/tiempo (Log_{10}) de fosfomicina después de la administración única por vía IV, IM y SC de una dosis de 20 mg/kg de fosfomicina disódica en caballos



Cuadro3. Promedio \pm SD de la relación concentración plasmática/tiempo (Log_{10}) de los preparados A y B (LS -LA) de fosfomicina disódica después de la administración única por vía IM de una dosis de 10 mg/kg