



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN SUR DE LA CIUDAD DE MÉXICO
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

TÍTULO

**“BIODISPONIBILIDAD ORAL DE VANCOMICINA INYECTABLE EN UN MODELO
EXPERIMENTAL”**

TESIS QUE PRESENTA

DR. JONATHAN RAMOS GARCÍA

PARA OBTENER EL DIPLOMA

EN LA ESPECIALIDAD EN

GASTROENTEROLOGÍA.

ASESORES:

DR. FERNANDO CALZADA BERMEJO

DRA. NAYELI XOCHIQETZAL ORTÍZ OLVERA



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

La presente tesis se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Farmacología (UIMF);
UMAE Hospital de Especialidades CORCE 2° PISO, IMSS, Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Esta tesis lleva por nombre **“BIODISPONIBILIDAD ORAL DE VANCOMICINA
INTRAVENOSA EN UN MODELO EXPERIMENTAL”**



Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud **3601** con número de registro **13 CI 09 015 184** ante COFEPRIS

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI,
D.F. SUR

FECHA **04/11/2016**

M.C. NAYELI XOCHIQUETZAL ORTIZ OLVERA

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

Biodisponibilidad oral de vancomicina inyectable en un modelo experimental

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro

R-2016-3601-199

ATENTAMENTE

HOJA DE FIRMAS

TÍTULO DE TESIS

**"BIODISPONIBILIDAD ORAL DE VANCOMICINA INYECTABLE EN UN MODELO
EXPERIMENTAL"**



**DRA. DIANA G. MENEZ DÍAZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN EN SALUD
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI.**



**DRA. NAYELI XOCHIQUETZAL ORTÍZ OLVERA
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE GASTROENTEROLOGIA-
PROFESOR TITULAR DEL SERVICIO DE GASTROENTEROLOGIA**



**DRA. NAYELI XOCHIQUETZAL ORTÍZ OLVERA
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE GASTROENTEROLOGIA-
ASESOR DE TESIS.**

DATOS DE INVESTIGADORES.

Autor:

Dr. Jonathan Ramos García

Residente del tercer año de la especialidad de Gastroenterología

UMAE Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI

Tel: 2281 218591 y 2281 376479

doctor__7@hotmail.com

Tutores:

1.- Dr. Fernando Calzada Bermejo

Laboratorio de Investigación en Farmacología, UMAE, Hospital de Especialidades CMN SXXI, IMSS, Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, Delegación Cuauhtémoc, México, D.F. Tel (55) 56276900, ext. 21367,

fercalber10@gmail.com

2.- Dra. Nayeli Xochiquetzal Ortiz Olvera

Médico adscrito del servicio de Gastroenterología, UMAE, Hospital de Especialidades CMN SXXI, IMSS, Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, Delegación Cuauhtémoc, México, D.F.

Tel (55) 56276900, ext. 21565 y 21566, Fax: 55194745

nayelixoortiz@yahoo.com

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
DATOS DE LOS AUTORES.....	2
MARCO TEÓRICO.....	3-29
JUSTIFICACIÓN.....	30-31
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	31
OBJETIVO.....	32
HIPÓTESIS.....	32
DISEÑO.....	32
MATERIAL Y MÉTODOS.....	32
VARIABLES Y ESCALA DE MEDICIÓN.....	32
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	32
RESULTADOS.....	36-37
DISCUSIÓN.....	37-39
CONCLUSIONES.....	40-41
CARTA DE CONSENTIMIENTO.....	41
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y ETICA.....	41
ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD.....	41-42
BIBLIOGRAFÍA.....	43-50

RESUMEN

Antecedentes: En nuestro medio existe un incremento en la prevalencia de diarrea aguda asociada a infección por *Clostridium difficile* (ICD); en la última década se ha reportado un incremento del número de casos en todo el mundo. En América latina y particularmente en México, son pocos los estudios sobre la incidencia o prevalencia de ICD, por lo que aún se desconoce el alcance real de esta enfermedad en nuestra población. Actualmente las guías internacionales de tratamiento, recomiendan para las formas severa y complicada el uso de vancomicina. En México no se encuentra disponible la vancomicina diseñada para administración oral, esto ha obligado a extrapolar la información que se tiene acerca de la utilidad de vancomicina vía oral para el tratamiento de ICD, a su presentación intravenosa.

Objetivo: Determinar la concentración en heces, después de la administración oral de una sola dosis de vancomicina inyectable a dosis de 125mg y 500mg, en un modelo experimental.

Material y métodos: Estudio preclínico. Se realizó en una unidad de Investigación en farmacología y bioterio de un centro de tercer nivel, entre Junio del 2016 a Junio del 2017. Se utilizaron tres lotes, de 6 ratones cada uno, en el lote A) administramos la solución de vancomicina diluida en agua inyectable a dosis de 125mg /kg; en el lote B) administramos solución de vancomicina diluida en agua inyectable a dosis de 500mg/kg; y en el lote C) administramos placebo. La vancomicina fue administrada por sonda nasogástrica, una vez ubicada en estómago. Posteriormente se realizaron determinaciones de las concentraciones de vancomicina en heces a las 2,4 y 6 horas, mediante cromatografía de líquidos de alta presión. Se utilizó el programa estadístico Graph-Pad, para graficar el tiempo/concentración de vancomicina. Para evaluar diferencia de medias entre los tres grupos, se realizó análisis de varianzas con ANOVA, y comparaciones múltiples con prueba de corrección de Bonferroni, con un nivel de significancia $p < 0,05$. El protocolo fue aprobado por el comité de ética de nuestra institución (R-2016-3601-199), el cuidado de los animales de experimentación se apegó a la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999.

Resultados: Después de 2 horas de administración intragástrica de vancomicina a dosis de 125 mg/kg, observamos que alcanzó una concentración terapéutica, que se mantuvo a las 4 horas y disminuyó a las 6 horas a concentraciones no terapéuticas. Con la administración de 500 mg/kg, observamos que a las 2h alcanzó una concentración terapéutica con un incremento gradual, observando el pico máximo durante el muestreo a las 6 horas. Después de la administración intragástrica, el AUC de vancomicina las 4h, con dosis de 500mg/kg, fue aproximadamente 1.9 veces mayor que vancomicina 125mg/kg, y aproximadamente 6 veces mayor a las 6 h del muestreo. Al comparar las dosis administradas de vancomicina (125mg/kg vs 500mg/kg), se observó que la concentración de vancomicina obtenida en heces a las 2 h, no muestra diferencia significativa (ANOVA, $p=0.7$; Bonferroni test, IC 95%, -0.32 – 0.10); sin embargo, si presentó diferencia significativa a las 4h y 6h del muestreo (ANOVA, $p= 0.0005$; Bonferroni test, IC 95%, -1.11 – 0.089, y -2.194 - -0.803, respectivamente).

Conclusión: El nuestro estudio, demostramos que la administración intragástrica de vancomicina inyectable en un modelo experimental de ratón, presenta una biodisponibilidad diferente de acuerdo a la dosis administrada. Con base a estos resultados, la dosis recomendada de vancomicina inyectable administrada por vía oral es de 500mg con intervalos de cada 6 horas, para alcanzar una concentración terapéutica en heces contra *Clostridium difficile*, independientemente del grado de severidad de la ICD.

1.- Datos del alumno	
Apellido paterno	Ramos
Apellido materno	García
Nombre (s)	Jonathan.
Teléfono	Teléfono: 2281 21 85 91.
Universidad	Universidad Nacional Autónoma de México.
Facultad	Medicina.
Carrera	Especialista en Medicina (Gastroenterología).
Número de cuenta	2281218591
2.- Datos del asesor	
Apellido paterno	Ortiz
Apellido materno	Olvera
Nombre (s)	Nayeli Xochiquetzal Fernando Calzada Bermejo.
3.- Datos de la tesis	
Título	Biodisponibilidad oral de Vancomicina inyectable en un modelo experimental.
Número de páginas	
Año	2018.
Número de Registro	R-2016-3601-199

MARCO TEÓRICO

VANCOMICINA

- **Historia**

Fue aislado por primera vez en 1956 a partir de cepas de *Streptomyces orientalis*. Los cultivos de fermentación de este microorganismo resultaron ser bactericidas frente a cepas de estafilococos y otras bacterias gram-positivas.¹

El nombre genérico de vancomicina, es derivado de la palabra inglesa que significa “vanquish” (vencer). Se aprobó en 1958 por la FDA, para el tratamiento de infecciones por cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a penicilina. La aparición de antibióticos β-lactámicos penicilinasas resistentes como meticilina, cefalosporinas y lincomicina, relegó su uso a un segundo plano; siendo hasta principios de los años 80 que se reconsideró y se introdujo para el tratamiento de la infección por *Clostridium difficile* y *S. aureus*, así como por la aparición de cepas de patógenos resistentes a otros antimicrobianos como el *S. aureus* y *Streptococcus* resistentes a penicilina.^{1, 2.}

- **Estructura química**

Fue caracterizada hasta 1978; como un polipéptido de peso molecular de 1448 Da, muy superior al de otros antibióticos, con fórmula molecular de $C_{66} H_{75} Cl_2 N_9 O_{24}$ (Figura 1).³

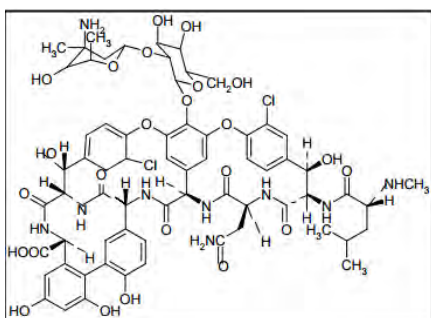


Figura 1. Fórmula molecular de vancomicina.

Es un glicopéptido con dos unidades de β-hidroxyclorotirosina, tres núcleos de fenilglicina y N-metil-leucina; anillos aromáticos y un disacárido formado por una molécula de glucosa y un aminoazúcar. Esto tiene importancia en las características químicas del antibiótico en su

capacidad de unirse a iones metálicos y para formar complejos con ciertas secuencias de aminoácidos terminales de péptidos bacterianos presentes en la pared celular. Es

relativamente insoluble en disolventes orgánicos y moderadamente solubles en metanol. Se obtiene como clorhidrato, y se reconstituye generalmente con agua estéril y se diluye con glucosa al 5% o cloruro de sodio 0.9%, la solubilidad acuosa depende del pH, es muy soluble a pH de 4, y disminuye la solubilidad a medida que el pH aumenta, alcanzando un mínimo a pH 7, en cuyo punto la carga molecular es de cero.

3

- **Mecanismo de acción**

Inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana; este bloqueo se debe a su capacidad de unión con las terminaciones peptídicas del mucopéptido de la pared, impidiendo a nivel extracelular el proceso de polimerización final del peptidoglicano compuesto principal de la pared celular bacteriana, que da forma, protección y consistencia a la bacteria. Este peptidoglicano es un biopolímero compuesto por unidades alternativas de los monosacáridos ácido N- acetilmurámico y N- acetil glucosamina; cada residuo de estos va unido a un pentapéptido. Al ser la vancomicina un glicopéptido actúa como análogo estructural para la glicopéptido-sintetasa, uniéndose fuertemente a los 2 residuos terminales del pentapeptido de la bacteria, interfiriendo en las reacciones de transglucosilación y transpeptidación, y por lo tanto en el ensamblaje del peptidoglicano (Figura 2).³

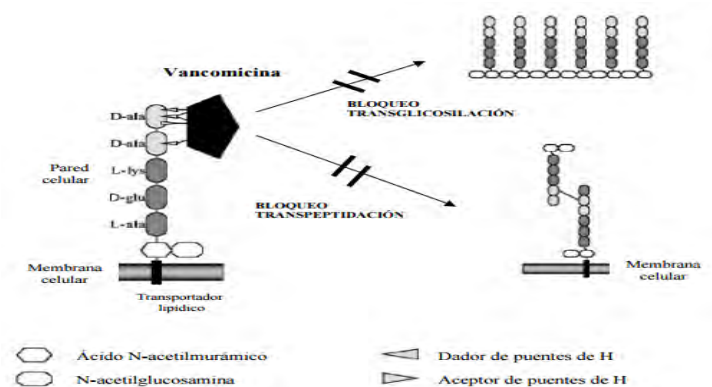


Figura 2. Mecanismo de acción de la vancomicina.

Este mecanismo de acción requiere el acceso de la molécula completa, a la superficie del peptidoglicano en formación, lo cual explica su especificidad sobre bacterias gram positivas; ya que el peptidoglicano de las bacterias gram negativas está protegido por una membrana externa de lipopolisacarido impermeable a moléculas complejas como los glicopéptidos.^{3,4.}

Un segundo mecanismo de acción complementario que contribuye a la interacción entre el glicopéptido y el terminal peptídico D-ala-D-ala, y es la formación de homodímeros entre las moléculas de glicopéptido, confiriendo rigidez estructural que interfiere estéricamente en la prolongación de la cadena de peptidoglicano.⁴

Es por eso que altera la permeabilidad de la membrana celular e impide la correcta síntesis de RNA de la bacteria.

- **Actividad antibacteriana**

Tiene actividad frente a todos los gram-positivos, aerobios y anaerobios, pero no frente a gram-negativos, a excepción de algunas cepas de *Neisseria gonorrhoeae*. Es bactericida frente a: *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *S epidermidis*, *S pyogenes*, *S viridans*, *Corynebacterium* spp, *Listeria* spp, *Neisseria* spp, *Bacillus* spp, *Actinomyces* spp y especies de anaerobios como *Clostridium difficile*, *Peptococcus* spp y *Peptostreptococcus* spp⁴; bacteriostático frente a: *Enterococcus faecalis* y *E faecium*.⁴ Un rubro aparte es la eficacia frente a *Staphylococcus aureus*, ya sean cepas sensibles a meticilina o resistentes a esta.^{3,4.}

La concentración mínima inhibitoria (CMI) de vancomicina frente a diferentes microorganismos varían en un amplio rango (0.25-256mg/l).⁵

En la Tabla 1, se muestran las CMI para algunos microorganismos.

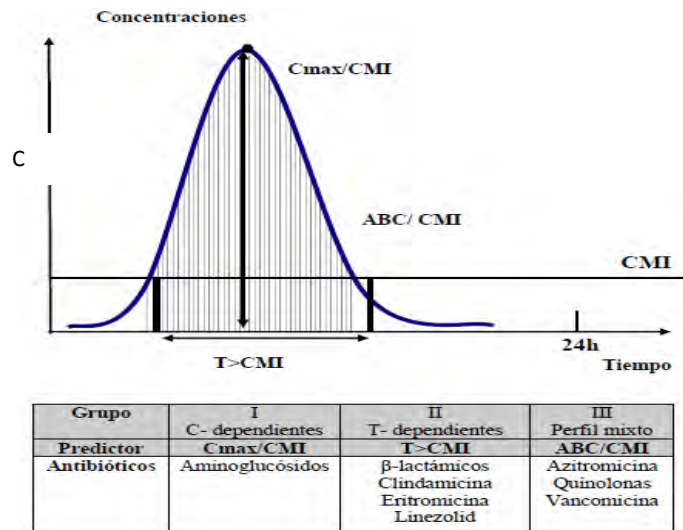
Tabla 1. **Concentración mínima inhibitoria de vancomicina contra algunos microorganismos.**

MICROORGANISMO	CMI (mg/L)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.25-2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.25-2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0.25-5
<i>Listeria</i> spp	0.25-2
<i>Bacillus</i> spp	0.12-1
<i>Clostridium difficile</i>	0.5-4

- **Perfil farmacodinámico**

La CMI que inhibe completamente el crecimiento de un microorganismo *in vitro*, es considerada una medida de la potencia de un antibiótico y por ello un criterio de selección de la terapia adecuada para una infección determinada. Sin embargo, dicho índice tiene límites inherentes (valor arbitrario y sujeto a error), no describe la velocidad de muerte bacteriana o el efecto post antibiótico, que no considera la unión de proteínas o que no describe el impacto del cambio de concentraciones a lo largo del tiempo en la erradicación bacteriana. En definitiva, no permite por si mismo predecir el resultado de un tratamiento para cierta infección. En las últimas décadas los antimicrobianos se han clasificado en 3 categorías, para poder garantizar la eficacia terapéutica y obviar los sesgos al solo considerar a la CMI como único parámetro para establecer eficacia. La vancomicina pertenece al tercer grupo, que posee un perfil mixto, es decir, su efecto es dependiente del tiempo, pero con un efecto post- antibiótico de moderado a prolongado.^{3,6.}

Esto supone maximizar la exposición sistémica del fármaco recibido como objetivo terapéutico, y que el cociente antibiótico 24h/CMI sea el parámetro predictivo de eficacia. Lo anteriormente expuesto, se ejemplifica en Figura 3.^{5,6.}



C= concentración; T= tiempo.

Figura3. Relación entre el tiempo y la concentración que un antibiótico alcanza como objetivo terapéutico.

• **Perfil farmacocinético**

El tratamiento con vancomicina de infecciones sistémicas, requiere la administración intravenosa del fármaco, habitualmente en forma de infusión intermitente.

La evolución de las concentraciones séricas de vancomicina en función del tiempo después, de su administración intravenosa ha sido descrita utilizando diversos modelos farmacocinéticas, siendo el más adecuado el modelo tricompartmental.³

En este caso, pueden distinguirse en el perfil cinético 3 fases:

- Fase de distribución rápida inicial, con una semivida de 4-7 minutos
- Fase de distribución intermedia con una semivida entre 30-60 minutos, y por ultimo
- Fase terminal de eliminación, de duración variable entre 6-12 horas, y totalmente dependiente de la función renal del paciente e incrementándose proporcionalmente al descenso del aclaramiento de creatinina.

En la práctica clínica, se ha utilizado un modelo sencillo, monocompartmental para describir la evolución temporal de la concentración de vancomicina en el organismo, en cuyo caso se admite solo la existencia de procesos de eliminación. En cualquier caso, el descenso inicial y marcado en las concentraciones de vancomicina, observable tras el fin de la infusión, es debido a los procesos de distribución.^{2,3.}

La vancomicina se distribuye en un volumen igual o superior al del agua corporal total, presentando valores de volumen aparente de distribución entre 0.4 y 1 l/kg. El volumen de compartimento central (V_c) representa un 10-15% del volumen total ($V_c=0.1-0.15$ l/kg), y es próximo al volumen sanguíneo. Estos valores son compatibles con una adecuada penetración y acceso a la mayoría de fluidos y tejidos del organismo. No obstante, las concentraciones obtenidas son muy variables y dependen en gran medida del grado de inflamación. Los estudios realizados en pacientes sobre la distribución de vancomicina encuentran concentraciones tisulares por lo general superiores a la CMI de los patógenos implicados, que son considerablemente inferiores a las existentes en sangre. La penetración de vancomicina al fluido cerebroespinal se ve favorecida en presencia de inflamación meníngea, pero la variabilidad de las concentraciones obtenidas y los valores de CMI que se deben alcanzar suponen la necesidad de administración intraventricular o intratecal en el caso de Infecciones del SNC, esto aplica también al acceso de vancomicina vía pulmonar y a nivel de colon.^{3,5.}

El comportamiento cinético, puede verse modificado por diversos factores:

- Edad: en neonatos existe una relación entre el aclaramiento de vancomicina y la edad post natal, gestacional y postmenstrual. Se ha indicado que los cambios observados son un reflejo de las modificaciones en la función renal como consecuencia del proceso de maduración biológica. Sin embargo, no parecen existir modificaciones en los procesos de distribución dependientes de la edad en la población pediátrica. Por el contrario, en los pacientes geriátricos se han señalado modificaciones tanto en la distribución como en la eliminación

y los cambios observados no guardan relación tan clara con la función renal. Así, en los ancianos por lo general, tanto el volumen como la semivida aumentan mientras que disminuye el aclaramiento. Estos cambios sugieren una necesidad de dosificación inferior en esta población.^{3,4,5.}

- Género: las mujeres presentan valores de volumen superiores a los de los hombres, siendo la diferencia mayor en las mujeres obesas. Estos datos sugieren que la distribución o acceso de vancomicina a la grasa es mayor en las mujeres.³
- Embarazo: apenas existen datos sobre alteraciones cinéticas inducidas por el embarazo. No obstante, los datos obtenidos apuntan a un incremento significativo tanto del aclaramiento como del volumen de distribución del fármaco, así como de su acceso al feto.³
- Insuficiencia renal: proceso patológico con mayor repercusión clínica en la cinética de la vancomicina, ya que la filtración glomerular es el principal determinante del aclaramiento del fármaco. En pacientes con insuficiencia renal se produce un aumento notable en la semivida y un acusado descenso en el aclaramiento a 3 el valor de semivida puede ser incluso de 6-7 días. Las distintas técnicas de diálisis no afectan significativamente la cinética de vancomicina, excepto porque suponen un incremento adicional en el aclaramiento, cuya magnitud depende tanto de la técnica en si misma como de las condiciones metodológicas en las que se utilice (Tabla 2).^{3,5.}

Tabla 2. Ejemplo de aclaramiento (CL) y semivida ($t_{1/2}$) de vancomicina

FUNCION RENAL	CL (ml/min)		$t_{1/2}$ (h)	
	Valor medio	IC95%	Valor medio	IC95%
Normal	100.7	91.1-110.5	6.7	6.1-7.4
Anúrico	5.7	4.8-7.0	137.8	124.4-159.4
Hemodiálisis intermitente (alta eficiencia)	93.4	56.3-130.5	77.1	39.3-114.9
Hemodiálisis intermitente (membranas de alta permeabilidad)	45.0	35.0-55.0	0.47(t 1/2 a) 114.0(t 1/2b)	0.18-0.63 24.0- 204.0
Hemofiltración veno-venosa continua (HFVVC)	58.1 (1 er día) 6.3 (16 días)		5.7 (1 er día) 33.3 (16 día)	
Hemodiafiltración venosa continua(HDFVVC)	30	46.7-23.3	15.6	6.9-24.3
Hemodiafiltración arterio-venosa(DFHAVC)	10.5	6.04-15		
Díálisis peritoneal continúa	7.4	5.4-9.4	62.8	29.8-95.8
Díálisis diaria de larga duración 78 (8 y 24 horas)	35-63.3 (8 hr) 6.7 (24 hr)		11.2 (8 hr) 43.1 (24 hr)	

- **Utilidad clínica**

Tratamiento antibiótico de primera línea frente a la mayoría de los gérmenes gram-positivos. Su empleo inicialmente quedó relegado a un segundo plano por algunos efectos secundarios y el descubrimiento de meticilina y otras penicilinas antiestafilocócicas. Durante 20 años se utilizó principalmente para el tratamiento de infecciones estafilocócicas graves en pacientes con alergia a penicilinas, y administrándose con precaución debido a su toxicidad. La nueva formulación del antibiótico, sin impurezas responsables en gran parte de sus efectos tóxicos y la prominencia de estafilococos como agente etiológico de infecciones nosocomiales, promovieron un incremento del uso de vancomicina, que conllevó a la creciente aparición de resistencias al antibiótico.⁷

Existen diversas situaciones en las que el uso de vancomicina es aceptable: en infecciones graves debidas a microorganismos gram-positivos resistentes a β -lactámicos, infecciones causadas por microorganismos gram-positivos en pacientes con alergia grave a antibióticos β -lactámicos, y pacientes con colitis pseudomembranosa que no responde a metronidazol o que es grave. En profilaxis para endocarditis por procedimientos invasivos con alto riesgo de infección. Así como en cirugía mayor si conlleva implantación de material protésico en instituciones con elevada incidencia de infecciones por *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) o *Streptococcus*

Efectos adversos

- Relacionados con la velocidad de infusión.

Síndrome de “hombre rojo” o “cuello rojo”, que consiste en un enrojecimiento eritematoso acompañado de prurito y que afecta la cara, cuello y parte superior del torso. Ocasionalmente, se acompaña de hipotensión y angioedema. También puede dar un ataque agudo de dolor músculo-esquelético, de los músculos paraespinales. Estas manifestaciones son atribuidas a una liberación de histamina y se observan especialmente con una velocidad de infusión excesiva y con soluciones concentradas

del fármaco. Se pueden prevenir administrando vancomicina diluida y administrar en infusión para ≥ 60 minutos. Otros efectos adversos importantes, con un mecanismo idiosincrásico o de tipo inmune, son tromboflebitis (13%), neutropenia reversible (1-2%), dermatitis bullosa y necrólisis tóxica epidérmica.⁸

- Relacionados con la dosis.

Los dos efectos adversos más serios de vancomicina relacionados con la dosis son ototoxicidad y nefrotoxicidad.

La ototoxicidad es debida a un daño directo sobre el nervio auditivo y es un proceso irreversible. La administración de vancomicina se ha relacionado con pérdida de audición, tinnitus o vértigo. Sin embargo, es difícil de evaluar, ya que no es frecuente realizar pruebas audiométricas basales a los pacientes, y es habitual el uso concomitante de otros fármacos ototóxicos como aminoglucósidos o eritromicina, lo que dificulta el establecimiento de una relación causa-efecto. En un estudio que evaluó este efecto en ausencia de otros fármacos ototóxicos, no hubo evidencias de toxicidad auditiva en ninguno de los pacientes.⁸

La nefrotoxicidad se define generalmente como un descenso de al menos el 20% del aclaramiento de creatinina basal. El mecanismo de la nefrotoxicidad de vancomicina no ha sido claramente definido y en la mayoría de los casos es autolimitada y reversible. Parece existir un aumento en su incidencia con el uso concomitante de otros fármacos nefrotóxicos como los aminoglucósidos, así como con la presencia de concentraciones altas, especialmente las mínimas, del antibiótico. El valor de la concentración mínima (Cmin) potencialmente nefrotóxica no ha sido establecido. Algunos autores encuentran una relación entre el desarrollo de nefrotoxicidad y Cmin de vancomicina superiores a 10 mg/L otros con Cmin >20 mg/l, y algunos incluso con concentraciones entre 30-65 mg/l. El riesgo potencial de causar nefrotoxicidad se estima inferior al 5%, pero si se asocia a aminoglucósidos potencia los efectos nefrotóxicos de éstos 3-4 veces.⁸

Epidermidis resistentes a meticilina.^{2,8,9.}

- **Infección por *Clostridium difficile***

Recientemente se ha observado un incremento en América latina y Europa de esta infección, además aumento en las cepas NAP1/BI/O27 hiperproductoras de toxinas.¹³ La vancomicina oral se recomienda para los casos severos o de recurrencia, basados en los niveles fecales altos que alcanza el fármaco, que son 100 veces más altos que la concentración mínima inhibitoria de 90 para este tipo de infecciones.^{20,21} Las dosis optimas de vancomicina oral no se han determinado en México, ya que van de 125mg hasta los 500mg en los casos severos complicados. En ese mismo sentido hasta el momento no se dispone en los sistemas de salud la presentación oral del medicamento, solo la intravenosa, y en lo que respecta a esta presentación, la información sobre la biodisponibilidad en tubo digestivo, principalmente en colon, es aún desconocida.^{12,13,17,23..}

La infección por *Clostridium difficile* (CDI) es una de las principales causas de enfermedades gastrointestinales, supone una gran carga al sistema de salud con un costo de 3.2 mil millones de dólares anuales. Los pacientes con infección por *Clostridium difficile* por lo general tienen largos periodos de estancia en los hospitales.^{5,21,25,26.}

Epidemiología y factores de riesgo.

El *Clostridium difficile* es una bacteria gram positiva estrictamente anaerobia que puede existir en forma vegetativa que es muy sensible al oxígeno, durante el estrés produce esporas para sobrevivir durante largos periodos de tiempo que disemina generalmente por vía fecal- oral, no es invasiva, produce toxinas A y B que causan diferentes escenarios clínicos desde portador asintomático hasta diarrea leve, moderada y colitis pseudomembranosa.²⁴

La enfermedad esta mediada por citotoxinas que dañan la mucosa del intestino, a saber la toxina A y la toxina B, dichas toxinas alteran la actina del citoesqueleto alterando la barrera transepitelial.²⁴

La infección por *Clostridium difficile* se define por la presencia de diarrea aguda asociada a la presencia de una toxina de *C. difficile* sin ninguna otra causa documentada de la diarrea.^{5,21,23}

Las tasas de infección por *Clostridium difficile* han estado aumentando desde el año 2000, sobretodo en paciente ancianos hospitalizados, o que viven en asilos.²⁴

Prevalencia/ incidencia.

La prevalencia de infección por *Clostridium difficile* (CDI) en una encuesta realizada en hospitales de Estados Unidos se calculó en 13/10,000 pacientes.²⁹ casi el 70% de los pacientes eran > 65 años y el 52% de los pacientes tenía > 70 años, el 80% había recibido antibioticos en el último mes y un 73% de los casos habían recibido atención sanitaria.

Datos más recientes de 2010 del programa de vigilancia de Infecciones emergentes que incluye 111 hospitales de cuidados, 310 hogares de ancianos y 711 hospitales de atención primaria que informan a la red nacional de seguridad social que el 75% de los casos habían aparecido en pacientes previamente hospitalizados.³⁰

En un estudio en EUA de 2000-2005, la incidencia en Estados unidos aumentó de 5.5/10,000 a 11.2/ 10, 000.³¹ En adultos de 18 a 44 años, el aumento fue de solo 1.3/10,000 a 2.4/10,000, pero en los pacientes de 65 a 84 años el aumento fue de 22.4/10,000 a 49/10,000 y en los pacientes > 85 años se duplicó de 52/10,000 a 112/10,000.³¹

El estado de portador asintomático ocurre en el 5-15% de los adultos sanos, pero puede llegar hasta un 84.4 % en recién nacidos y lactantes sanos y hasta en el 57% de los pacientes residentes de asilos.^{32,33,34.}

Algunos bebes pueden tener cepas no toxigenicas. Los pacientes hospitalizados tienen tasas de transporte más altas.

Las principales fuentes de infección en hospitales son el transporte del microorganismo a través de las manos del personal de salud y de los pacientes infectados.^{27,28.}

Análisis multivariado reveló que la proximidad física a un paciente con CDI aumento el riesgo de CDI (RR 1.86) con IC 95 % de 1.06-3,28 . Además del cuidado de la salud C. difficile se encuentra en el suelo, una variedad de animales.^{27.}

Factores de riesgo.

Los 2 mayores factores de riesgo son la exposición a antibióticos, especialmente aquellos de amplio espectro y la exposición a la bacteria, otros factores que aumentan el riesgo en estudios Epidemiológicos son la edad avanzada, cirugía gastrointestinal, alimentación por sonda nasogástrica, medicamentos que disminuyen la acidez gástrica y enfermedad concurrente, incluyendo, enfermedad inflamatoria intestinal.^{35,36,37,38,39,40,41.}

En la mayoría de los estudios el análisis multivariado muestra que la edad avanzada y el uso de antibióticos, las comorbilidades y las estancias hospitalarias prolongadas son los mayores predictores de infección por Clostridium difficile.^{41,42.}

También los inhibidores de bomba de protones se asocian a la infección por clostridium difficile, una meta- análisis de 29 estudios de pacientes con CDI encontró que los inhibidores de bomba de protones aumentan el riesgo al doble.^{43,44.}

Los factores de riesgo para CDI recurrente son distintos: Un meta- análisis de 12 estudios que incluyeron 1382 pacientes con CDI recurrente encontró que los factores de riesgo incluyeron el uso continuado de antibióticos con un OR de 4.23 (2.1-8.5 IC95%), uso de antiácidos con OR de 2.1 (1.1-4.1) IC95% y edad avanzada OR 1.6 (1.1-2.4) IC95%.⁴⁵

Clasificación de la enfermedad.

De acuerdo al tiempo en que inicia el primer síntoma y a los antecedentes de hospitalización en: nosocomial, asociada a cuidados de la salud, adquirida en la comunidad y forma indeterminada.^{46,47}

La forma nosocomial se define como aquella en la cual los síntomas inician 3 días posteriores al internamiento.

La forma adquirida en la comunidad se define como aquella que se presenta dentro de las primeras 4 semanas de haber sido dado de alta.

La forma asociada a cuidados de la salud se define como la presencia de síntomas en las primeras 72 horas del internamiento o que no haya estado hospitalizado en las últimas 12 semanas

Enfermedad indeterminada cuando se dio de alta de un hospital en las últimas 4-12 semanas.

Recurrencia se define como el episodio de CDI que ocurre 8 semanas después de la aparición del primer episodio anterior, siempre que los síntomas del episodio anterior hayan sido resueltos. Varios estudios de EU revelan que la forma nosocomial representando del 53 al 89% de los casos seguida de la asociada a cuidados de la salud representando del 3-28% de los casos, en tercer lugar la adquirida en la comunidad del 5-27% de los casos y por último la indeterminada del 5%.

Desde el año 2000 ha surgido una cepa epidémica (NAP1 / BI / 027), asociada con un aumento de la incidencia endémica y un aumento de la mortalidad de los pacientes en algunas instituciones. Las cepas NAP1 /BI / 027 tienen una mayor tasa de resistencia a fluoroquinolonas, producen 16 veces más toxina A, y 23 veces más toxina B in vitro que otras cepas de *C. difficile* y producen una toxina binaria. Los pacientes infectados con esta cepa tienen menor curación clínica y tasas más altas de recurrencias CDI que los pacientes con otras cepas. Sin embargo, varios estudios no han demostrado una asociación entre cepas NAP1 / BI / 027 y enfermedad grave.^{51,52,53,54,55.}

Microbiología y diagnóstico.

La mejor prueba para establecer el diagnóstico no ha sido claramente establecida. Durante los últimos 30 años las 2 pruebas de referencia principales han sido el Ensayo de neutralización de toxinas (CCNA) y la presencia de toxinas de *Clostridium difficile*.^{56,57.}

La muestra ideal para la detección debe ser líquida, muy ocasionalmente un paciente con leucemia y enfermedad complicada podrá tener una evacuación formada.²⁴

Anteriormente la determinación de toxina AB mediante análisis inmunoenzimático (EIA) fue el estudio más ampliamente utilizado para el diagnóstico. Sin embargo en los últimos años han reducido sustancialmente las sensibilidades en los estándares de referencia. Además los inmunoensayos para toxina A (sin toxina B) no detectan el pequeño número de cepas patogénicas que solo producen toxina B. Una revisión sistemática muestra que la sensibilidad de la determinación de toxina AB mediante EIA es de un 75 a 95% y una especificidad de 83 a 93% en comparación con CCNA como prueba de referencia y una especificidad de 83 - 98% en comparación con CCNA prueba de referencia.^{59,60}

2 avances importantes en el diagnóstico de laboratorio son el uso de detección de GDH en las heces como medio de cribado para diagnóstico de infección por *Clostridium difficile* y el desarrollo de análisis de ácido nucleicos tales como PCR para detectar cepas toxigénicas de *Clostridium difficile*.^{59,60}

Glutamato deshidrogenasa (GDH) es una enzima producida por *Clostridium difficile*, se produce relativamente en mayores cantidades cuando se compara contra las toxinas A y B, es sensible, pero no específica ya que también otros organismos toxigénicos como no toxigénicos pueden producirla. Además, los anticuerpos contra GDH pueden reaccionar de forma cruzada con la misma encima de otras especies Clostridiales. Los metanálisis detallan una sensibilidad del 75 al 90%, con valor predictivo negativo de entre 95 y 100 % y valor predictivo positivo de 50%.⁶¹

Por la sensibilidad comentada del antígeno de GDH esta se usa como prueba de cribado, aunque cabe destacar que hasta un 10% de los pacientes con organismos toxigénicos pueden ser perdidos por este método. En este enfoque, GDH es la prueba inicial, y las muestras GDH negativas son notificados como negativos a infección por *Clostridium* sin realizar pruebas adicionales, las pruebas que resultan GDH positivas deben someterse a pruebas adicionales para *C. difficile* o bien por NAAT o por

pruebas de análisis inmunoenzimático seguidas por NAAT si los resultados son discordantes.

La evidencia sugiere que los análisis genéticos (NAATS) para detección de *Clostridium difficile* toxigénico son buenas pruebas independientemente de la toxigenicidad de *C. difficile*, se encuentran aprobados por la FDA la NAAT, incluyendo ensayos de PCR y ensayos de amplificación isotérmica. La PCR es una excelente prueba confirmatoria, pero los datos para la prueba de amplificación isotérmica no son los suficientemente validados para recomendarlo.

Existen varios NAAT aprobados por la FDA, incluyendo el ensayo de PCR y la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP). Actualmente hay 6 NAAT disponibles aprobados por la FDA: 4 ensayos de PCR, un método LAMP y una amplificación mediada por ribonucleasa y basada en chip. Además la prueba de PCR es más específica que GDH.⁶²

Las guías de práctica clínica han evolucionado en los últimos 7 años para sugerir los siguientes enfoques diagnósticos.²³

- 1) Determinación de GDH seguido de una prueba confirmatoria el algoritmos de 2 o 3 pasos.
- 2) NAAT para *C. difficile* toxigenicas (solo en pacientes con diarrea documentada), ya que su uso en cualquier otro entorno puede dar resultados falsos positivos.
- 3) La determinación de toxina A+B mediante EIA carece de sensibilidad en comparación con CCNA y no debe utilizarse como una prueba independiente.
EIA para la toxina A + B carece.

Dentro de las recomendaciones de la guía del Colegio Americano de Gastroenterología publicada en Abril del 2013 solo las heces líquidas deben ser evaluadas para la búsqueda de infección por *Clostridium difficile* (como Recomendación fuerte y alta calidad de evidencia), se recomienda realizar ensayos de amplificación de ácido nucleicos para toxina de *Clostridium difficile* y se menciona

que son superiores a la toxinas AB (como recomendación fuerte y moderada calidad de evidencia) así mismo se comenta que las pruebas de detección de Glutamato deshidrogenasa(GDH) se pueden utilizar en algoritmos de 2 o 3 pasos con toxinas AB posteriores, siendo la sensibilidad de estas estrategias menor a la de los ensayos de amplificación de ácidos nucleicos(recomendación fuerte y moderada calidad de evidencia)., no se deben repetir las pruebas y no se debe realizar pruebas para valorar curación debido a que las toxinas permanecen positivas hasta 30 días en pacientes con resolución de los síntomas.

Manejo de infección de acuerdo

Manejo de forma leve a moderada.

Enfermedad leve se define como la presencia de 3 evacuaciones líquidas con prueba positiva para dicha infección.²³

Enfermedad moderada se define como la presencia de diarrea pero sin síntomas ni signos adicionales que cumplan con la definición para grave.²³

La enfermedad grave cuando se presenta durante el curso de la enfermedad hipoalbuminemia menor de 3 gr/dl y cualquiera de los siguientes: leucocitos > 15 000 células/mm³, así como dolor abdominal.²³

Enfermedad complicada cuando desarrolla al menos uno de los siguientes síntomas: hipotensión que requiere aminas, fiebre mayor de 38.5, íleo, distensión abdominal significativa, cambios en el estado mental, leucocitos > 35 000 células/ mm³ o menores de 2000 células/mm³, lactato > 2.2 mmol/ litro o cualquier evidencia de falla orgánica, así mismo se considera complicada cuando amerita estancia en unidad de cuidados intensivos.²³

Los síntomas de íleo incluyen náusea, vómito o interrupción repentina de la diarrea, distensión abdominal o signos compatibles con alteración del tránsito intestinal

Estos criterios no se han validado, signo que se eligen basados en la comparación de índices de puntuación de la gravedad clínica para infección por *Clostridium difficile* y

pueden tener valores predictivos negativos pero pobres valores para determinar la probabilidad de muerte o necesidad de colectomía.²³

Un análisis reciente de varios sistemas de puntuación clínica evaluó los factores de riesgo para infección por *Clostridium difficile* grave definidos como pacientes que ameritaron unidad de cuidados intensivos o colectomía, o pacientes que murieron dentro de los primeros 30 días de la infección. Los factores de riesgo independientemente en el análisis multivariado fueron distensión abdominal, leucocitosis e hipoalbuminemia. De acuerdo a recomendaciones del Colegio Americano de Gastroenterología se consideran estos 2 criterios bioquímicos para guía terapéutica, debido a que estos están directamente relacionados con la patogénesis de la infección. La toxina A de *clostridium difficile* actúa como anafilotoxina atrayendo neutrófilos lo que resulta en leucocitosis, la hipoalbuminemia se correlaciona directamente con la gravedad de la diarrea, ya que la infección por *Clostridium difficile* puede dar lugar a una enteropatía y la albúmina se considera un reactante de fase aguda y un marcador de estados inflamatorios.

Dichos criterios también son sugeridos por recomendaciones de la IDSA, SHEA y ESCMID.

Una estratificación precisa de los pacientes basada en la gravedad utilizando dichos criterios garantizara una terapia adecuada sin sobre tratar a los pacientes.

El colegio Americano de Gastroenterología recomienda que si se tiene una fuerte sospecha de infección por *Clostridium difficile* se debe iniciar terapia empírica independientemente de los resultados de las pruebas dados los valores predictivos negativos insuficientemente alto para excluir la enfermedad(Recomendación fuerte, moderada calidad de evidencia), cualquier agente antimicrobiano que tenga potencial de precipitar la infección debe ser interrumpido si es posible(Recomendación fuerte, alta calidad de evidencia).²³

Un meta-análisis de 12 ensayos clínicos aleatorizados demostró que el uso de antimicrobiano para infecciones distintas a Clostridium es significativamente asociado a un mayor riesgo de recurrencia de infección por Clostridium difficile.

Una revisión retrospectiva de 246 pacientes tratados del 2004 a 2006 también confirmó una asociación independiente de los antimicrobianos con la recurrencia, por lo que la exposición a distintos antibióticos distintos a los destinados para infección por Clostridium deben evitarse a menos que sea absolutamente indicado.⁶³

De acuerdo a Recomendaciones del Colegio Americano de Gastroenterología los pacientes con formas leve a moderada deben ser tratados con Metronidazol 500 mg por vía oral cada 8 horas por 10 días (Recomendación fuerte, alta calidad de evidencia). Los paciente con forma grave deben ser tratados con Vancomicina 125 mg vía oral 4 veces al día por 10 días (Recomendación condicional, moderada calidad de evidencia).²³

Los 2 antibióticos de primera línea para tratar la infección por Clostridium son Metronidazol y Vancomicina, una tercera opción de tratamiento aprobada en 2011 fue Fidaxomicina. El tratamiento para infección por Clostridium difficile puede iniciarse antes de la confirmación para pacientes con alta sospecha de la enfermedad, 2 Ensayos clínicos controlados más antiguos compararon Metronidazol y Vancomicina para al tratamiento, sin demostrarse superioridad del Metronidazol en formas leves y moderadas. Sin embargo recientes ensayos clínicos controlados concluyeron que la Vancomicina es mejor que el Metronidazol para las formas graves de la enfermedad. En otro estudio con 150 pacientes asignados al azar para recibir Metronidazol o Vancomicina teniendo como meta la curación clínica, la cual se definió como una determinación de toxina negativo y ausencia de diarrea en el día 6, utilizando dicha definición el 90% de los pacientes tratados con Metronidazol y el 98% de los pacientes tratados con Vancomicina fueron curados en la forma leve, pero en las formas severa el grupo tratado con Metronidazol curo en 76% y el grupo de Vancomicina en el 97%, por lo que actualmente es ampliamente citado de acuerdo a la evidencia que la

Vancomicina es superior al Metronidazol en las formas severa, sin embargo las limitaciones del estudio fueron la dosis de Metronidazol utilizada y la definición de cura no valida.⁶²

Aunque continua la preferencia por Metronidazol como tratamiento de elección de forma leve a moderado basado en eficacia, una razón adicional e importante de esta elección es el costo, La Vancomicina oral cuesta desde 71-143 dólares por día (dependiente el régimen de dosificación elegido) en comparación con Metronidazol que cuesta con 2 dólares por día, la formulación intravenosa de Vancomicina tiene la mitad del costo de la presentación oral.⁶²

El costo puede ser causa de incumplimiento del esquema de tratamiento. Otra razón por la que no se utiliza vancomicina en el paciente hospitalizado es el riesgo teórico de promover adquisición de Enterococos resistentes a Vancomicina, sin embargo esto no ha sido demostrado para evitar el uso de Vancomicina para tratamiento de CDI.⁶²

Aunque es una práctica común prescribir entre 10 y 14 días, la duración del tratamiento de 10 días en ensayos clínicos aleatorizados, puesto que no hay evidencia que apoye de duraciones mayores de tratamiento mejoren las tasas de respuesta.

Una alternativa de tratamiento es Fidaxomicina 200 mg 2 veces al día por 10 día para la forma leve- moderada.⁶²

El colegio Americano de Gastroenterología considera que si el paciente inicia tratamiento con Metronidazol y no responde al 5-7 día de tratamiento, debe iniciarse manejo con Vancomicina (Recomendación fuerte, moderada calidad de evidencia). Sin embargo es razonable persistir con Metronidazol en monoterapia para los pacientes con formas leves a moderadas al menos 7 días, al menos que aparezcan sintomas que hagan sospechar una forma severa o intolerancia a Metronidazol en cualquier momento de la terapia. La Vancomicina en dosis Standard se debe considerar para pacientes que no responden en 5-7 día de tratamiento o que desarrollan signos de formas grave.²³

Dosis muy altas de Vancomicina (500 mg 4 veces al día), se incluyen en recomendaciones de IDSA y SHEA para el tratamiento de CDI complicado, como resultados de esto se ha convertido en una práctica común utilizar dosis altas de Vancomicina en pacientes que no responden a la dosis recomendada de 125 mg 4 veces al día. Un Ensayo de 46 pacientes al azar a recibir 500 o 125 mg de Vancomicina 4 veces al día para tratamiento inicial de infección por Clostridium no mostró diferencias en la duración de la diarrea, la tasa de recaída, cursa microbiológica, demostrándose que se alcanzan concentraciones mínimas inhibitorias que superan en 10 la necesidad, debido al alto costo de Vancomicina hay evidencia insuficiente para apoyar el uso de dosis mayores de 125 mg 4 veces al día para pacientes en forma leve a moderada, particularmente para pacientes ambulatorios.²⁴

Como recomendación del Colegio Americano de Gastroenterología para CDI leve a moderado en pacientes que son intolerantes /Alérgico al Metronidazol así como para lactantes y mujeres embarazadas, la vancomicina se debe utilizar en la dosificación estándar. (Recomendación fuerte, evidencia de alta calidad). EN paciente en los que los antibióticos no pueden alcanzar un segmento de colon, como la bolsa de Hartman, la ileostomía o derivaciones, la terapia con vancomicina debe ser administrada mediante enema debe añadirse a los tratamientos anteriores hasta que el paciente mejore (Recomendación condicional, baja calidad de evidencia).²⁴

La Vancomicina no puede alcanzar segmento del colon que no están en continuidad con el sistema gastrointestinal como el paciente con ileostomía ascendente, bolsa de Hartman o colostomía, así mismo el Metronidazol tampoco puede tratar un segmento de colon de estas características, debido a que es absorbido rápidamente el intestino delgado, con una excreción mínima de 6-15% por las heces fecales Existen datos de que el Metronidazol IV también entra a la luz del colon después de secreción a través de inflamación de la mucosa colonica y los pacientes con CDI que responden al tratamiento tienen una caída drástica de concentraciones fecales de antibióticos al inicio de la terapia. Cuando se documenta un segmento de colon excluido con

presencia de afectación por Clostridium, la administración de Vancomicina mediante enemas es recomendada para garantizar que el tratamiento llegue al sitio afectado, habitualmente se utiliza 500 mg en 100 a 500 ml de solución salina cada 6 horas, el volumen dependerá de la longitud del segmento que será tratado La duración de la terapia deberá ser hasta que el paciente tenga mejoría clínica significativa.⁶³

El colegio Americano de Gastroenterología, La IDSA Y SHEA recomiendan evitar el uso de agentes antiperistálticos para controlar la diarrea, debido a que puede precipitar una enfermedad complicada (fuerte recomendación, baja calidad de evidencia).²⁴

Una revisión de la literatura de 55 pacientes con CDI que fueron expuestos a tales agentes encontraron que 17 pacientes desarrollaron dilatación del colon y 5 murieron (59), estos resultados se presentaron en los pacientes que solo fueron tratados al inicio con agentes antiperistálticos sin uso de antibióticos para infección por Clostridium.

Los costos de los tratamientos en la unidad Americana son: Metronidazol 22 dólares el tratamiento de 10 días, Vancomicina oral 680 dólares el tratamiento de 10 días, Vancomicina inyectable 100-400 dólares el tratamiento de 10 días, Fidaxomicina 2800 dólares el tratamiento por 10 días.

Manejo de forma severa y severa complicada

De acuerdo a recomendaciones del Colegio Americano de Gastroenterología se debe realizar adecuada reanimación con líquidos intravenosos, corrección de déficits electrolíticos y se debe administrar profilaxis antitrombótica, en ausencia de íleo o distensión abdominal, la alimentación oral debe continuar (Recomendación condicional, baja calidad de evidencia). Se recomienda realizar Tomografía abdominal en pacientes complicados para determinar la gravedad y la extensión de la enfermedad, dicho estudio puede detectar engrosamiento de la pared del colon, megacolon, íleo, presencia de ascitis o perforación (Recomendación condicional, baja calidad de evidencia).⁶³

La Vancomicina a dosis de 125 mg 4 veces por día + Metronidazol IV 500 mg cada 8 horas es el tratamiento de elección para los pacientes que no tienen distensión abdominal significativa (Recomendación fuerte y baja calidad de evidencia).⁶³

La IDSA / SHEA recomiendan vancomicina 500 mg por vía oral cuatro veces al día y la adición de Metronidazol intravenoso (500 mg IV tres veces al día) si el paciente tiene íleo o Distensión abdominal significativa.⁶³

Existen datos limitados sobre el uso de regímenes alternativos de antibióticos para pacientes con formas severa, como se había comentados previamente la Fidaxomicina no era inferior a la vancomicina para la cura inicial del CDI, pero no se dispone de datos sobre la eficacia de este fármaco en casos graves o en enfermedad complicada. La tigeciclina es un análogo novedoso de la minociclina que tiene una amplia actividad antimicrobiana frente al organismos gram positivos y gram positivos. En varios casos publicados los informes sugieren un beneficio de Tigeciclina como estrategia de rescate para el tratamiento de pacientes con CDI grave, en los que la terapia con vancomicina y Metronidazol ha fallado. Sin embargo, otros ECA son requeridos antes de poder hacer recomendaciones sobre el uso de Tigeciclina o Fidaxomicina en formas graves de CDI.⁶³

Como Recomendación del Colegio Americano de Gastroenterología se debe dar manejo con Vancomicina 500 mg 4 veces por día + Vancomicina rectal 500 mg en 500 ml+ Metronidazol 500 mg iv cada 8 horas como tratamiento de elección para pacientes con CDI con íleo o colitis toxica y distensión abdominal significativa (Recomendación fuerte, baja calidad de evidencia).⁶³

En pacientes con íleo, incapacidad para tolerar alimentación oral o enteral, distensión abdominal significativa, el uso coadyuvante de instilación directa de Vancomicina en colon se recomienda ya que ni la Vancomicina ora ni el Metronidazol alcanzara concentración adecuada en colon, ya que el Metronidazol intravenoso debe alcanzar la superficial luminal misma que depende de la secreción biliar del Metronidazol. En pacientes con íleo se altera la entrega de vancomicina administrada por via oral al

clon, por lo que la administración de un enema de retención o colonoscopia se ha demostrado como una estrategia eficaz en informes de series pequeñas. En cuanto al volumen a administrarse, se ha visto que la administración de 500 ml asegura la llegada al colon transverso y que los volúmenes más grandes aseguran la llegada de Vancomicina al colon proximal, la solución salina se utiliza como vehículo para la administración de Vancomicina, debe monitorizarse estrechamente en búsqueda de hipercloremia, en caso de producirse una alternativa sería administrar la Vancomicina con una solución de Ringer lactato.⁶³

Cirugía en infección por clostridium.

La cirugía deberá realizarse en los pacientes con CDI complicado, pacientes con cualquier de los siguientes factores atribuidos a la infección como son : hipotensión que requiere manejo vasopresor, signos clínicos de sepsis y disfunción orgánica , alteración en el estado mental, recuento leucocitario mayor de 50 ,000 y lactato > 5 mmol/ litro o CDI complicado sin respuesta tras 5 días de iniciado el tratamiento médico(esto según el Colegio Americano de Gastroenterología como recomendación fuerte y moderada calidad de evidencia).²³

Se ha visto que el pacientes con formas fulminantes es realizarles colectomía de manera temprana les reduce la mortalidad, lo mismo el internamiento en un servicio quirúrgico les reduce la mortalidad. Los factores de riesgo independientes para la mortalidad en los paciente con colectomía incluyen el desarrollo de choque con necesidad de vasopresores, niveles de lactato por arriba de 5 mmol/ litro, insuficiencia orgánica, intubación preoperatoria y necesidad de ventilación mecánica preoperatoria. Los hallazgos más comunes al momento de la cirugía son la necrosis colónica así como la perforación, estos probablemente resultan del desarrollo de choque con isquemia secundaria no oclusiva

Manejo de recurrencia de infección por clostridium

Después del tratamiento de un episodio inicial la probabilidad de recurrencia es de un 10-20%, pero cuando el paciente tuvo una primera recurrencia las tasas de nuevas

recurrencias oscilan entre 40-65%. La recidiva puede deberse a la misma cepa o a diferentes cepas. Las recurrencias pueden deberse a alteración del sistema inmune o alteración de la microbiota.

En un estudio de pacientes hospitalizados con CDI los que desarrollaron recurrencia tenían niveles más bajos de inmunoglobulina G vs Inmunoglobulina A, en cuanto a la microbiota un estudio mostró que aquellos pacientes con recurrencia tenían una notable disminución de la diversidad de la flora bacteriana, hecho que se demuestra con las altas tasas de respuesta que tiene el trasplante de microbiota fecal que están por arriba del 90%

De acuerdo al Colegio Americano de Gastroenterología

La primera recurrencia de CDI puede ser tratada con el mismo régimen que se utilizó en el episodio inicial, si es severa debería manejarse con Vancomicina.

La segunda recurrencia debe ser tratado con un régimen de Vancomicina pulsado (Recomendación condicional, baja calidad de evidencia).

Las recomendaciones de las guías de la IDSA/ SHEA recomiendan el tratamiento de la primera recurrencia utilizando el mismo antibiótico que se utilizó para el episodio inicial, se recomienda el uso de Vancomicina para recurrencias debido al riesgo de neuropatía con la administración repetida de Metronidazol. El uso de Vancomicina a dosis de 125 mg 4 veces al día por 10 días se prefiere para cualquier recurrencia si es grave, si el esquema inicial fue vancomicina se puede considerar un régimen pulsado que por evidencias actuales ofrece mayor respuesta.

Aquí proponemos un sencillo régimen de coste-efectividad: un estándar de 10 días

Si hay una tercera recurrencia después de un manejo con vancomicina pulsado se recomienda el trasplante de microbiota fecal (recomendación condicional, moderada calidad de evidencia).

Actualmente el ofrece una curación del 91% de los casos.

En una serie de 70 pacientes, incluso con cepa NAP1 el TMBF fue efectivo. Un estudio multicentrico retrospectivo que evaluó pacientes tratados con TMBF mostro una curación primaria del 91% de los casos y una curación secundaria del 98% de los casos.

Comorbilidades e infección por clostridium.

Varias comorbilidades suponen un mayor riesgo de adquirir la infección por clostridium difficile como son enfermedad inflamatoria intestinal incluyendo a los pacientes postoperados, pacientes con hepatopatía crónica (139-140), receptores de trasplante de órganos (sólido y hematopoyético), paciente con malignidad en curso, con uso de quimioterapia y aquellos que utilizan esteroides de manera crónica, pacientes con hipogamaglobulinemia y mujeres embarazadas y puérperas.

Como Recomendación en todos los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal con presencia de actividad se debe descartar la infección por clostridium difficile y en aquellos que tengan factores de riesgo para desarrollarlo deberán realizarse pruebas para confirmar dicho diagnostico.

En pacientes que tienen colitis grave, la indicación simultanea de tratamiento empírico dirigido contra clostridium difficile debe iniciarse si la sospecha es grande aun en espera de resultados., los medicamentos inmunosupresores pueden mantenerse, debiendo evitarse un ajuste de los mismos sin haber tratado la infección por clostridium difficile si es que está presente(recomendación condicional, baja calidad de evidencia).

En pacientes postrasplantados el riesgo de CDI es de 3-11%

Embarazo, puerperio e infección por clostridium difícil.

Se recomienda que cualquier enfermedad diarreica en pacientes embarazadas o puérperas deba ser estudiada en búsqueda de CDI (Recomendación condicional, baja calidad de evidencia). Aunque la presencia de CDI en pacientes embarazadas hospitalizadas se estima en un 0.2%, la mortalidad es alta, considerándose un grupo de alto riesgo. Otro informe reciente encontró que la cesárea puede conferir más

riesgo que el parto vaginal para CDI, la tasa de mortalidad materna y fetal en pacientes con CDI grave sigue siendo alta (cerca de un 30%).

Prevención y control.

Un programa de control de infecciones hospitalario puede ayudar a reducir la incidencia de CDI.

Se recomienda un alto índice de sospecha en pacientes con factores de riesgo (antimicrobianos recientes o actuales, uso de anticonceptivos, edad avanzada, hospitalización reciente, residencia de asilos, CDI anterior).⁶⁶

No se recomienda hacer la detección si no existe diarrea y los portadores asintomáticos no deben ser tratados.⁶⁶

Deben mantenerse las precauciones de contacto para un paciente con CDI al menos hasta la resolución de la diarrea.⁶⁵

Debe aislarse a los pacientes con sospecha de CDI o CDI confirmado (Recomendación fuerte, alta calidad de evidencia).⁶⁶

Una correcta higiene de manos y precauciones de barrera incluyendo guantes, deben ser utilizados por los trabajadores de la salud y visitantes de pacientes con sospecha o confirmación de CDI.⁶⁶

. El equipo desechable de un solo uso debe utilizarse para evitar la transmisión del CDI, así mismo equipos médicos no desechables deben estar dedicados a la sala del paciente, y otros equipos deben ser limpiados a fondo después de su uso en un paciente con CDI.⁶⁶

Se deben desinfectar las superficies ambientales.

JUSTIFICACIÓN.

En nuestro medio existe un incremento en la prevalencia de diarrea aguda asociada a infección por *Clostridium difficile* (ICD); en la última década se ha reportado un incremento dramático en el número de casos en todo el mundo.^{12,14} En México, se reportó en Monterrey una frecuencia de ICD del 20.7%, con una mortalidad a 30 días del 8.4%¹³, con una incidencia de 1.1casos/1000 pacientes-día, en pacientes hospitalizados.¹⁸ Esto es particularmente preocupante, ya que existe un incremento en la mortalidad en el 4.5% y en un 55.3% de la estancia hospitalaria atribuible a ICD.¹⁹

De acuerdo a la severidad de la enfermedad, se ha establecido el tratamiento; en este sentido las guías internacionales de tratamiento se proponen el uso de antibióticos orales como metronidazol, vancomicina y fidaxomicina, y otras modalidades de tratamiento como el uso de microbiota fecal.²⁰ La primera línea de tratamiento recomienda el uso de metronidazol oral, en casos leves a moderados en ausencia de factores de riesgo para recurrencia; la vancomicina oral es recomendada en casos severos, complicados, o cuando no existe mejoría clínica después de 3 días de tratamiento con metronidazol.²⁰ La dosis recomendada de vancomicina es de 125mg c/6h vía oral por 10 días en casos leves a moderados, y se recomiendan 500mg c/6h vía oral en las formas severas complicadas por 10-14 días.^{20,21} La concentración mínima inhibitoria de vancomicina recomendada para *Clostridium difficile* es de 0.5-4mg/l, siendo su efecto dependiente de tiempo, pero con un efecto post-antibiótico de moderado a prolongado dentro de su biodisponibilidad.⁵

Actualmente en México no se encuentra disponible en el sector público ni privado la presentación de vancomicina vía oral; este hecho ha obligado a extrapolar la información que se tiene acerca de la utilidad de vancomicina oral para el tratamiento de ICD a su presentación intravenosa para administrarse vía oral. Cuando se decide por algún personal de la salud el uso de un medicamento en condiciones distintas a la de su ficha técnica, aparecen diversos principios éticos y legales. En la práctica clínica se ha utilizado la presentación intravenosa en forma diluida, con

resultados satisfactorios; sin embargo, se desconoce la biodisponibilidad oral de vancomicina en solución inyectable y si el vehículo de administración modifica la biodisponibilidad. En México no existen estudios que demuestren la biodisponibilidad de vancomicina en tubo digestivo, en su presentación intravenosa administrada vía oral, y si el vehículo en el que se administra modifica su biodisponibilidad.

Planteamiento del problema

En México la infección por *Clostridium difficile* es prevalente, va en incremento, se asocia a mortalidad y morbilidad, recientemente han incrementado las cepas hipervirulenta así mismo las formas relacionadas con adquisición en la comunidad, De acuerdo a recomendaciones de guías internacionales la vancomicina es el tratamiento de elección en formas severa y severa complicada de la enfermedad.

En dichas guías se recomienda la administración de vancomicina por vía oral, sin embargo en nuestro medio no contamos con dicha presentación del fármaco, solo se cuenta con la presentación intravenosa, la cual se ha utilizado de manera empírica para su administración oral, sin estudios que avalen esto.

Nuestro grupo plantea la pregunta si ¿La vancomicina vía intravenosa tiene adecuada biodisponibilidad si se administra por vía intravenosa?, contestar dicha pregunta que es el planteamiento del problema es el objetivo del estudio.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la concentración en heces a 3 diferentes tiempos después de la administración oral de una sola dosis de vancomicina de 125mg/kg, utilizando tres vehículos diferentes en un modelo de ratón.

Objetivos secundarios

Evaluar las curvas de concentración y si existe diferencia en las concentraciones las diferentes de vancomicina en nuestras en cuanto a biodisponibilidad.

Hipótesis de trabajo

La administración de vancomicina inyectable por vía oral es equiparable a la administración de vancomicina oral.

Diseño del estudio

Estudio experimental (estudio preclínico) sobre la base de un modelo de ratón. Estudio para evaluar la biodisponibilidad de Vancomicina para administración inyectable, administrada por vía oral en 2 dosis diferentes (125 y 500 mg).

Material y Métodos.

Material y animales

La formulación inyectable de clorhidrato de vancomicina (VCM) fue adquirida del laboratorio PISA con el nombre de Vanaurus (Guadalajara, Jalisco, México; Reg. No. 487M96 SSA. IPP-A: GEAR-108175/RM 2002). Se utilizaron tres vehículos, agua inyectable, solución salina al 0.9%, y jugo de naranja (Único Fresco 100% natural sin pulpa, JUMEX®, Reg No. 170511-00). Se utilizaron ratones Macho de la cepa Balb-C, haloxénico (con peso promedio de 27 ± 3 g; 18semanas de edad). Todo el experimento con animales en el presente estudio fue aprobado por el comité de investigación y ética en investigación en salud del hospital (número de aprobación: R-2016-3601-196). Los ratones estuvieron en un ambiente con temperatura de 18 a 26°C, con humedad relativa de 40-70%, con un sistema de ventilación con 15 a 18 recambios de aire por hora, durante 24 horas. Con un ciclo de luz/oscuridad de 12h con luz artificial tipo luz de día con lámparas fluorescentes y 12h de oscuridad; con una intensidad de ruido menor a 85dB. Los ratones tenían acceso libre al agua y de 3

a 6 g diarios de alimento comercial para roedores, constituido por 17-24% de proteína cruda, 4-11% de grasa cruda, 3-6% de fibra cruda, y 5-7% de cenizas sin vitamina C.

El cuidado de los ratones se apegó a lo recomendado por las guías del Consejo Internacional de Organizaciones Médicas (CIOM) para Investigación Biomédica con Animales y la norma oficial mexicana de técnica para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999.^{17,22}.

Preparación de la vancomicina administrada a los ratones

La cantidad de clorhidrato de vancomicina a administrar se calculó en mg/kg de peso de ratón; el polvo necesario para cada dosis se pesó en una balanza analítica (Ohaus, Analytical Plus) y fue disuelto en cada uno de los vehículos seleccionados para esta investigación a razón de 0.5 ml por dosis como se indica:

Lote A) vancomicina inyectable a dosis de 125mg/kg/dosis, diluida en agua inyectable.

Lote B) vancomicina inyectable a dosis de 125mg/kg/dosis, diluida en solución salina 0.9%.

Lote C) vancomicina inyectable a dosis de 125mg/kg/dosis, diluida en jugo de naranja.

Administración oral de vancomicina

En el estudio se utilizaron cuatro lotes, con 6 ratones cada uno, en el lote A) se administró la solución de vancomicina diluida en agua inyectable a dosis de 125mg / kg de peso de ratón, en el lote B) se administró la solución de vancomicina diluida en solución salina al 0.9% a dosis de 125mg/kg de peso de ratón, el lote C) se administró la solución de vancomicina diluida en jugo de naranja a dosis de 125mg / kg de peso del ratón y el lote D) se le administró 1 ml de vehículo; la administración fue realizada con una cánula oro gástrica.

Después de la administración, se colocaron los ratones en jaulas metabólicas, cada lote en una jaula independiente, y se tomaron muestras de heces a las 2, 4 y 6 horas después de la administración. Las muestras de las heces se suspendieron en 4 ml de agua inyectable y se mezclaron en un agitador vortex® (Thomas scientific analog vortex mixer modelo 945700), la suspensión resultante se dejó sedimentar y el sobrenadante fue colocado en un microtubo eppendorf (MTC- 150-C de 1.5 ml clear homo polymerboils PROOF 311-08-051), posteriormente fue centrifugado en una minispin (Eppendorf), programado a 12,500 revoluciones durante 10 minutos. La totalidad del sobrenadante se filtró (filtros PALL de 0.45 micrometros Nylon acrodise 13 micrometros) y 20 microlitros del filtrado obtenido se inyectaron en el cromatógrafo de líquidos (Waters, modelo 2795) para la cuantificación de vancomicina.



Figura 4. Caja de almacenamiento.

Ensayo de Vancomicina

El análisis de vancomicina se efectuó en un cromatógrafo de líquidos Waters 2795 equipado con detector de fotodiodos Waters 996, inyector automático de muestras y el programa Millennium 3.1. Se utilizó una columna WatersSpherisorb de 4.6x 250 mm.y una fase móvil de fosfato monobásico de potasio 0.025 M a pH de 3.0 y acetonitrilo en proporción de 92:8, con un flujo de 0.8 mL/min, la detección se efectuó a 230 nm.

La cuantificación de vancomicina se hizo por interpolación del área del pico correspondiente al fármaco en una curva de calibración obtenida con soluciones de vancomicina en concentraciones de 21.5, 43 y 86 µg/mL con una R² de 0.9933.

Análisis farmacocinético

Los parámetros farmacológicos evaluados incluyeron la RT, el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), porcentaje de área bajo la curva (% área), y la altura de la curva. La concentración de vancomicina en heces fue calculada utilizando la siguiente ecuación:

$$X = (y/2.7047) - (0.9268)$$

Análisis estadístico

Todos los valores están representados por la media ± desviación estándar (DE), mediana (intervalos) y proporciones. Se utilizó el programa estadístico Graph- Pad, para graficar el tiempo/concentración de vancomicina. Para evaluar diferencia de medias entre los tres grupos, se realizó análisis de varianzas con ANOVA, y comparaciones múltiples con prueba de corrección de Bonferroni, con un nivel de significancia un valor de p<0,05.

Variable	Tipo	Escala de Medición	Definición
Dosis de vancomicina	Ordinal.	Cuantitativa	operacional.
		Ordinal.	Dosis administrada de vancomicina a cada ratón.

RESULTADOS.

Los perfiles de concentración en heces después de la administración intragástrica de vancomicina, se muestra en la figura 5

Después de la administración oral de vancomicina a dosis de 125 mg/kg, observamos que a las 2h se alcanzó una concentración terapéutica, con un pico máximo a las 4 horas, y disminuyó a las 6h a concentraciones no terapéuticas. En el caso de la administración intragástrica de vancomicina a dosis de 500 mg/kg, observamos que a las 2h alcanzó una concentración terapéutica con un incremento gradual, observando el pico máximo durante el muestreo a las 6 horas.

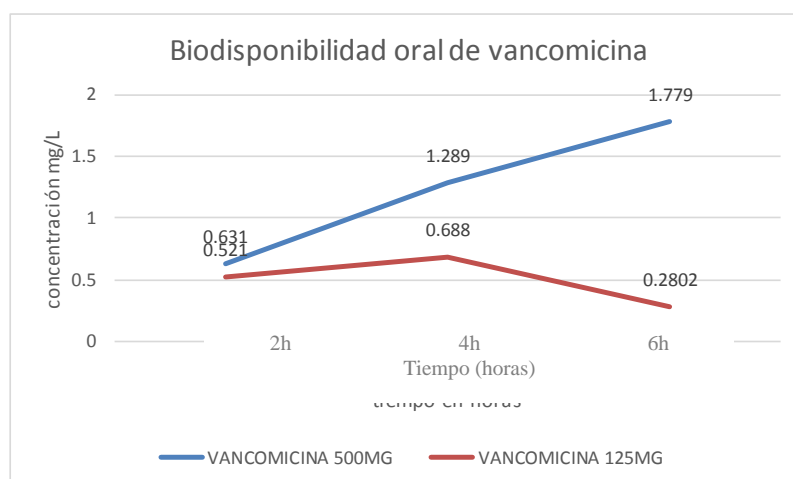


Figura 5 .Se muestran la concentración en heces de vancomicina a las 2, 4 y 6 horas posteriores a la administración de vancomicina inyectable, la línea roja representa la dosis de 125mg/kg, y la línea azul representa la dosis de 500mg/kg.

Después de la administración intragástrica el AUC de vancomicina a dosis de 500mg/kg, fue aproximadamente 1.9 veces mayor que vancomicina a dosis de 125mg/kg a las 4 horas y aproximadamente 6 veces mayor a las 6 horas del muestreo. Al comparar la dosis administrada de vancomicina (125mg/kg vs 500mg/kg), observamos que la concentración de vancomicina obtenida en heces a las 2 h, no

muestra diferencia significativa (ANOVA, $p=0.7$; Bonferroni test, IC 95%, -0.32 – 0.10); con diferencia significativa a las 4h y 6h del muestreo (ANOVA, $p= 0.0005$; Bonferroni test, IC 95%, -1.11 – 0.089, y -2.194 - -0.803, respectivamente), figura 6.

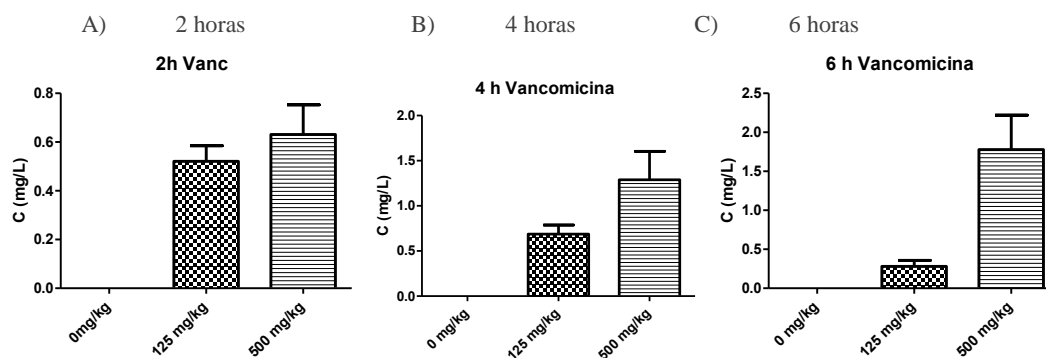


Figura 6. En la figura 6 A) muestra la concentración de vancomicina en heces a las 2h en los tres lotes, donde la concentración de vancomicina no muestra diferencia significativa entre la dosis de 125mg/kg y 500mg/kg ($p=0.7$); 6B y 6C) muestra la concentración de vancomicina en heces a las 4 y 6h en los tres lotes, con diferencia significativa entre la dosis de 125 y 500mg/kg ($p=0.005$).

DISCUSIÓN.

En nuestro estudio, encontramos que la administración intragástrica de vancomicina inyectable muestra una biodisponibilidad diferente, de acuerdo a la dosis administrada. Con base a nuestros resultados, la dosis recomendada de vancomicina inyectable administrada por vía oral es de 500mg/kg cada 6 horas, para alcanzar una concentración terapéutica en heces contra *Clostridium difficile*.

La infección por *Clostridium difficile* sigue siendo una enfermedad prevalente e incidente en nuestro medio, que lleva consigo gran morbilidad y mortalidad, actualmente es una de las causas más frecuente de infección nosocomial, y en la última década ha incrementado la prevalencia de formas adquiridas en la comunidad;

asimismo, se reporta un incremento de las formas hipervirulentas.^{12,14,18} De acuerdo a la severidad de la enfermedad, se ha establecido el tratamiento. El tratamiento específico para la infección por *C. difficile* se basa en metronidazol y vancomicina, pilares del tratamiento en ICD desde 1970's. La dosis óptima de vancomicina oral no ha sido determinada en México, en las guías de tratamiento del grupo americano y europeo de Gastroenterología, se recomienda una dosis de 125mg hasta 500mg cada 6 horas, con base a la severidad del cuadro.^{20,21} La vancomicina tiene un perfil farmacocinético mixto, es decir, su efecto es dependiente del tiempo, pero con un efecto post- antibiótico de moderado a prolongado, la concentración mínima inhibitoria (CMI) de vancomicina frente a *Clostridium difficile* varían de 0.5-4mg/L.⁵

Actualmente en México no se encuentra disponible en el sector público ni privado la presentación de vancomicina vía oral; este hecho ha obligado a extrapolar la información que se tiene acerca de la utilidad de vancomicina vía oral para el tratamiento de infección por *Clostridium difficile* a su presentación intravenosa para administrarse vía oral. Cuando se decide por algún personal de la salud el uso de un medicamento en condiciones distintas a la de su ficha técnica, aparecen diversos principios éticos y legales. Por lo anterior, en nuestro estudio evaluamos la biodisponibilidad oral de vancomicina inyectable en un modelo experimental, observando que la administración intragástrica de vancomicina inyectable, muestra una biodisponibilidad diferente en heces, de acuerdo a la dosis administrada.

En el modelo experimental de ratón, la vancomicina a dosis de 500mg/kg, alcanza concentraciones terapéuticas desde las primeras dos horas, e incrementa gradualmente su biodisponibilidad hasta las 6 horas del muestreo, observando en este momento su concentración máxima. La vancomicina en dosis de 125 mg/kg alcanza concentraciones terapéuticas a las 2h, sin demostrar diferencia significativa con la dosis de 500mg, se logra mantener una concentración terapéutica hasta las 4 h pero

no a las 6h, con diferencia significativa en relación a la dosis de 500mg/kg desde las 4 horas del muestreo.

Con base a estos resultados, consideramos que la dosis de vancomicina de 500 mg, tiene un comportamiento estable y seguro, en cuanto a alcanzar una CMI terapéutica para el manejo de ICD, con la posología recomendada en las guías de tratamiento internacionales^{20, 21,23}. Sin embargo, la dosis de 125 mg, con base a nuestros resultados podemos considerar que es segura y efectiva dentro de las primeras 2 - 4 horas, ya que alcanza una CMI adecuadas; sin embargo, se tendría que recomendar su administración vía oral cada 4 horas, para lograr mantener una CMI terapéutica contra ICD⁵.

Dentro de las limitantes de nuestro estudio podemos mencionar que no se realizó un monitoreo hasta 12 horas para determinar en qué momento disminuye la concentración de vancomicina en heces y si permanece a concentraciones terapéuticas mas allá de 6 horas; asimismo, es necesario realizar un ensayo en un modelo experimental con infección por *Clostridium difficile*, para evaluar el comportamiento de vancomicina con las variantes propias del cuadro, en cuanto a inflamación y motilidad. Asimismo, es necesario evaluar si el vehículo de administración puede modificar la biodisponibilidad del fármaco.

Es el primer estudio Mexicano, que evalúa la biodisponibilidad de vancomicina inyectable administrada por vía oral a las dosis recomendadas por las guías internacionales de tratamiento, en el cual encontramos que la dosis de vancomicina de 500mg cada 6 horas es la dosis recomendada para ICD, debido a que alcanza desde las primeras 2 horas la concentración terapéutica recomendada contra *Clostridium difficile*, y se mantiene estable durante las 6 horas del monitoreo, a diferencia de la

dosis de 125mg que disminuye su concentración después de las 4 horas, lo cual nos obligaría a disminuir los intervalos de administración.

CONCLUSION

El nuestro estudio, encontramos que la administración intragástrica de vancomicina inyectable en un modelo experimental de ratón, muestra una biodisponibilidad diferente de acuerdo a la dosis administrada. Con base a nuestros resultados, la dosis recomendada de vancomicina inyectable administrada por vía oral es de 500mg cada 6 horas, para alcanzar una concentración terapéutica en heces contra *Clostridium difficile*, independientemente del grado de severidad de la ICD.

Consideraciones éticas

Se consideró como objetivo primordial el obtener resultados experimentales sin causar dolor o angustia a los animales. Se procuró refinar los procedimientos para evitar que estos causen sufrimiento por lo que se tuvo en cuenta el respeto, afecto y gratitud. Se siguió el principio de las tres R propuesta por William Russel y RexBurch en 1959: Reducir, Reemplazar y Refinar. Reducir al máximo el número total de animales utilizados en investigación. Reemplazar, siempre que sea posible, el animal de experimentación por otro modelo experimental, cuando no resulte imprescindible el uso de animales. Refinar los métodos y técnicas utilizados de modo que produzcan al animal el menor sufrimiento posible. Para lograr esto y para evitar riesgos ocupacionales se siguieron normas de buenas prácticas de laboratorio. La manipulación de los animales de laboratorio se realizó en apego a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (Anexo A), sobre técnicas para el cuidado y uso de animales de laboratorio. En el apartado 4 correspondiente a las disposiciones generales de uso de animales, todo el artículo 5.1 que especifica condiciones del uso de roedores como animales en experimentación. Los animales de laboratorio se

mantuvieron y se manipularon en el Bioterio del CMN S XXI que contó con las especificaciones del artículo 6; nos apegamos al artículo 8.2 para la administración de fluidos y sustancias.

Carta de consentimiento

El protocolo no involucra trabajo con seres humanos por lo que no se requiere carta de consentimiento (Anexo C).

Comité de Investigación y Ética.

Este protocolo y cualquier material que lo acompañe fueron sometidos por el investigador a un Comité de Ética e Investigación. La aprobación se obtuvo antes de iniciar el estudio y se documentó en una carta al investigador en la que se especificó la fecha en que se obtuvo dicha aprobación.

Aspectos de bioseguridad

La Unidad de Investigaciones Médicas en Farmacología y el bioterio del CMN Siglo XXI cuenta con el material, equipo, infraestructura y logística necesarios para el desarrollo del proyecto de investigación de acuerdo con las normas y reglamentos:

- a) Se cuenta con los permisos y/o licencias oficiales que se requieran para llevar a cabo el trabajo propuesto.
- b) NOM-062-ZOO-1999 artículos 4o fracción III, 12 fracción XIV, 17 y 18 fracción VI de la Ley Federal de Sanidad Animal
- c) Reglamento de la Ley de Protección a los Animales del Distrito Federal artículo 5º fracción IV
- d) NOM-033-ZOO-1995 artículo 4o fracciones I, III y V, 12, 16, 17 y 44 de la Ley Federal de Sanidad Animal
- e) NOM-087-ECOL-SSA1-2002

f) Reglamento de la Ley General de Salud en Material de Investigación para la Salud: Título cuarto, capítulo I, artículo 75, 77; Título séptimo, capítulo único

En el momento que sea requerido las comisiones de Ética y bioseguridad podrán revisar:

a) Las instalaciones de los laboratorios participantes para constatar que se encuentran en estado ideal de operación y son adecuadas para llevar a cabo la investigación propuesta.

b) El equipo utilizado se encuentra en condiciones óptimas para su operación.

c) El equipo personal de protección se encuentran en estado satisfactorio de operación.

d) Los involucrados en el proyecto, tienen la capacitación y experiencia necesaria para trabajar con el material señalado anteriormente.

e) Se mantuvieron las condiciones adecuadas de instalaciones, equipo y personal durante el desarrollo del proyecto.

f) Los desechos biológicos se transportaron en bolsas amarillas al bioterio del CMN Siglo XXI o del laboratorio de Farmacia de la UAEH en contenedores dentro de un cuarto frío para su incineración por parte de la empresa contratada para este servicio.

g) Los desechos químicos que se generaron durante el desarrollo de los experimentos y procesamiento de muestras se colocaron en recipientes de vidrio para ser recogidos por una empresa encargada en recuperar los solventes

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Levine DP. Vancomycin: A history. Clin Infect Dis 2006; 42 (supp1):S5-S12.
2. Walsh TR, Howe RA. The prevalence and mechanisms of Vancomycin resistance in *Staphylococcus Aureus*. Annu Rev Microbiol 2002; 56:657-75.
3. Sweetman S. Vancomycin. Martindale: The Complete Drug Reference. London: Pharmaceutical Press. Electronic version. 2007.
4. Van-Bambeke F, Laethem YV, Courvalin P, Tulkens PM. Glycopeptide antibiotics: from conventional molecules to new derivatives. Drugs 2004; 64(9):913-36.
5. Tenover FC, Moellering RC. The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute Vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for *Staphylococcus Aureus*. Clin Infect Dis 2007; 44(9):1208-15.
6. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing-Eucast [online]. <http://www.eucast.org>.
7. Salemi C, Becker L, Morrissey R, Warmington J. A clinical decision process model for evaluating Vancomycin use with modified HICPAC guidelines. Hospital Infection Control Practice Advisory Committee. Clin Perform Qual Health Care 1998; 6:12-6.
8. Finch RG, Eliopoulos GM. Safety and efficacy of glycopeptides antibiotics. J Antimicrob Chemother 2005; 55(Suppl 2):ii5-ii13.
9. Pootoolal J, Neu J, Wright GD. Glycopeptide antibiotic resistance. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2002; 42:381-408.
10. Zilberberg M.D, Shorr A.F, Kollef M.H. Increase in adult *Clostridium difficile* related hospitalizations and case-fatality rate. United States, 2000-2005. Emerg Infect Dis, 2008;14:929-31.

11. Kyne L, Hamel M.B, Polavaram R. Health care costs and mortality associated with nosocomial diarrhea due to *Clostridium difficile*. Clin Infect Dis 2002; 34: 346-53.
12. Balassiano I.T, Yates. E.A, Domingues R.M. Clostridium difficile: a problem of concern in developed countries and still a mystery in Latin America. J Med Microbiol 2012; 61: 169-79.
13. Camacho-Ortiz A, Ponce-de-León A, Sifuentes-Osornio J. Clostridium difficile associated disease in Latin America. GacMedMex 2009; 145 : 223-29.
14. Leffler D.A, Lamont J.T. Clostridium difficile infection. N Engl J Med 2015; 372:1539-48.
15. Ramírez-Rosales A, Cantú-Llanos E. Mortalidad intrahospitalaria en pacientes con diarrea asociada a infección por *Clostridium Difficile*. Rev Gastroenterol Mex 2012; 77: 60-5.
16. Rodríguez Yunta E. Desafíos éticos de la investigación con animals, manipulacion genetic. Rev Peru Med Exp Salud Publica 2012;29(4):535-40.
17. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio
18. Camacho-Ortiz A, López Barrera D, Hernández-García R, et al. First Report of Clostridium difficile NAP1/027 in a Mexican Hospital. PloSOne 2015; 10(4):e0122627.
19. Lopardo G, Morfin-Otero R, Moran-Vázquez II, et al. Epidemiology of Clostridium difficile: a hospital-based descriptive study in Argentina and Mexico. Braz J Infect Dis 2015;19(1):8–14.
20. Christina M. Surawicz, MD , Lawrence J. Brandt et al, Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections. Am J Gastroenterol 2013; 108:478-98.
21. Crobach MJ, Planche T, Eckert C, Barbut F, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance

- document for Clostridium difficile infection. Clin Microbiol Infect 2016;supp4:S63-81.
22. Guía del Consejo Internacional de Organizaciones Médicas (CIOM) para Investigación Biomédica con Animales, 8a Edición. ISBN: 0-309-15401-4, 248 pages, 6 x 9, (2010).
 23. -Feher C, Mensa J. A comparison of current Guidelines of Five International Societies on Clostridium difficile Infection Management. Infect Dis Ther 2016. DOI 10.1007/s40121-016-0122-1.
 24. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S *et al*. Directrices de práctica clínica para la infección por *Clostridium difficile* en adultos: actualización de 2010 por la Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América (IDSA). *Infect Control and Hosp Epidemiol* 2010; 31: 431 - 455.
 25. McFarland LV. Terapias emergentes para infecciones por *Clostridium difficile*. *Expert Opin Emerg Drugs* 2011; 16: 425-439.
 26. O'Brien JA, Lahue BJ, Caro JJ *et al*. El desafío infeccioso emergente de la enfermedad asociada a *Clostridium difficile* en los hospitales de Massachusetts: consecuencias clínicas y económicas. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28: 1219-1227.
 27. Janarthanan S, Ditah I, Phil M *et al*. *Clostridium difficile* - diarrea asociada y tratamiento con inhibidores de la bomba de protones: un meta-análisis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1001 - 1010.
 28. . Kwok CS, Arthur AK, Anibueze CI *et al*. Riesgo de infección por *Clostridium difficile* con fármacos supresores de ácido y antibióticos: metanálisis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1011 - 1019.

29. Jarvis WR, Schlosser JA, Jarvis AA y col. Prevalencia puntual nacional de *Clostridium difficile* en los hospitales de los Estados Unidos, 2008. *Am J Infect Control* 2009; 37: 263-270
30. MMWR. Signos vitales: prevención de infecciones por *Clostridium difficile*. *Morb Mortal Wkly Rep.* 2012; 61: 157 - 162.
31. Zilberberg MD, Shorr AF, Kollef MH. Aumento de hospitalizaciones relacionadas con *Clostridium difficile* y tasas de letalidad en los Estados Unidos, 2000-2005. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 929 - 931.
32. Matsuki S, Ozaki E, Shouzu M et al. Colonización por *Clostridium difficile* de recién nacidos en un hospital, e infantes y niños en tres guarderías de Kanazawa, Japón. *Int Microbiol* 2005; 8: 43 - 48.
33. Rousseau C, Lemée L, LeMonnier A et al. Prevalencia y diversidad de cepas de *Clostridium difficile* en lactantes. *J Med Microbiol* 2011; 60: 1112 - 1118.
34. Bryant K, McDonald LC. Infección por *Clostridium difficile* en niños. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 145 - 146.
35. McFarland LV, Surawicz CM, Stamm WE. Factores de riesgo para el transporte de *Clostridium difficile* y diarrea asociada a *C. difficile* en una cohorte de pacientes hospitalizados. *J Infect Dis* 1990; 162: 678 - 684.
36. Rodemann JF, Dubberke ER, Reske KA et al. Incidencia de la infección por *Clostridium difficile* en la enfermedad inflamatoria intestinal. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007 5: 339 - 344.
37. Issa M, Ananthkrishnan AN, DG Binion. *Clostridium difficile* y enfermedad inflamatoria intestinal. *Inflam Bowel Dis* 2008; 14: 1432 - 1444.

38. Al-Eidan FA, McElnay JC, Scott MG *et al.* *Clostridium difficile* - diarrea asociada en pacientes hospitalizados. *J Clin Pharm Ther* 2000; 25: 101 - 109.
39. Deshpande A, Pant C, Pasupuleti V *et al.* Asociación entre el tratamiento con inhibidores de la bomba de protones y la infección por *Clostridium difficile* en un metanálisis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 225 - 233.
40. Vestcinsdottir I, Gudlaugsdottir S, Einarsdottir R *et al.* Factores de riesgo para la diarrea positiva a la toxina de *Clostridium difficile*: un estudio prospectivo de casos y controles basado en la población. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; EPub.
41. Bavishi C, DuPont HL. Revisión sistemática: el uso de inhibidores de la bomba de protones y el aumento de la susceptibilidad a la infección entérica. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1269 - 1281.
42. Loo VG, Poirier L, Miller MA *y col.* Un brote predominantemente clonal multi-institucional de *Clostridium difficile* - diarrea asociada con alta morbilidad y mortalidad. *N Engl J Med* 2005; 353: 2442 - 2449.
43. Muto CA, Pokrywka M, Shutt K *et al.* Un gran brote de *Clostridium difficile* - enfermedad asociada con una proporción inesperada de muertes y colectomías en un hospital de enseñanza después de un uso aumentado de fluoroquinolona. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 273 - 280.
44. Deshpande A, Pant C, Pasupuleti V *et al.* Asociación entre el tratamiento con inhibidores de la bomba de protones y la infección por *Clostridium difficile* en un metanálisis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 225 - 233.
45. Hu MY, Katchar K, Kyne L *y col.* Derivación prospectiva y validación de una regla de predicción clínica para la infección recurrente por *Clostridium difficile*. *Gastroenter* 2009 136: 1206 - 1214.

46. Bauer MP, Veenendaal D, Verhoef L *et al.* Características clínicas y microbiológicas de la infección por *Clostridium difficile* en los Países Bajos. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15: 1087 - 1092.
47. Zilberberg MD, Tabak YP, Sievert DM *et al.* Utilizar información de salud electrónica para estratificar el riesgo de infecciones por *Clostridium difficile* en hospitales de los Estados Unidos. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32: 649 - 655.
48. Kazakova SV, Ware K, Baughman B *y col.* Un brote hospitalario de diarrea debido a una cepa epidémica emergente de *Clostridium difficile*. *Arch Intern Med* 2006; 166: 2518 - 2524.
49. Kutty PK, Benoit SR, Woods CW *y col.* Evaluación de las definiciones de vigilancia de la enfermedad asociada a *Clostridium difficile*, Carolina del Norte, 2005. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 197-202.
50. Dumyati G, Stevens V, Hannett GE *et al.* Infecciones por *Clostridium difficile* asociadas a la comunidad, condado de Monroe, Nueva York, EE.UU. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 392-400.
51. McDonald LC, Killgore GE, Thompson A. *et al.* Una epidemia, la cepa variante genética de toxina de *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2005; 353: 2433 - 2441.
52. . Loo VG, Poirier L, Miller MA *y col.* Un brote predominantemente clonal multi-institucional de *Clostridium difficile* -diarrea asociada con alta morbilidad y mortalidad. *N Engl J Med* 2005; 353: 2442 - 2449.
53. Hubert B, Barón A, Le Quere JM *y col.* Un retrato de la diseminación geográfica de la cepa tipo 1 de campo pulsado de tipo cerrado de *Clostridium difficile* y la epidemiología de la enfermedad asociada a *C. difficile* en Quebec. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 238-244.

54. Elixhauser AA, Jhung M. *Enfermedad asociada a Clostridium difficile en los Estados Unidos en hospitales, 1993-2005 Resumen estadístico HCUP # 50*. Agencia de Investigación y Calidad de la Salud: Rockville, MD, 2008.
55. Muto CA, Pokrywka M, Shutt K *et al.* Un gran brote de *Clostridium difficile* - enfermedad asociada con una proporción inesperada de muertes y colectomías en un hospital de enseñanza después de un uso aumentado de fluoroquinolona. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 273 - 280.
56. Planche T, Wilcox M. Ensayos de referencia para la infección por *Clostridium difficile* : ¿uno o dos estándares de oro? *J Clin Pathol* 2011; 64: 1-5.
57. Sambol SP, Merrigan MM, Lyster D *et al.* Análisis de genes de toxinas de una cepa variante de *Clostridium difficile* que causa enfermedad clínica humana. *Infect Immun* 2000, 68: 5480 - 5478
58. Barbut F, Delmee M, Brazier JS *y col.* Una encuesta europea de métodos de diagnóstico y protocolos de prueba para *Clostridium difficile*. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 989 - 996.
59. Turgeon DK, Novicki TJ, Quick J *y col.* Seis pruebas rápidas para la detección directa de *Clostridium difficile* y sus toxinas en muestras fecales en comparación con el ensayo de citotoxicidad de fibroblastos. *J Clin Microbiol* 2003, 41: 667 - 670.
60. Planche T, Aghaizu A, Holliman R *y col.* Diagnóstico de la infección por *Clostridium difficile* por kits de detección de toxinas: una revisión sistemática. *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 777 - 784.
61. Planche T, Aghaizu A, Holliman R *y col.* Diagnóstico de la infección por *Clostridium difficile* por kits de detección de toxinas: una revisión sistemática. *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 777 - 784.

62. Al-Nassir WN, Sethi AK, Li Y *et al*. Tanto el metronidazol oral como la vancomicina oral promueven el crecimiento persistente de enterococos resistentes a la vancomicina durante el tratamiento de la enfermedad asociada a *Clostridium difficile* . *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 2403 - 2406
63. O'Keefe SJ. La alimentación por tubo, la microbiota y la infección por *Clostridium difficile* . *World J Gastroenterol* 2010; 16: 139 - 142.
64. Planche T, Aghaizu A, Holliman R y *col*. Diagnóstico de la infección por *Clostridium difficile* por kits de detección de toxinas: una revisión sistemática. *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 777 - 784.
65. Drekonja DM, Amundson WH, Decarolis DD *et al*. Uso antimicrobiano y riesgo de infección recurrente por *Clostridium difficile* . *Am J Med* 2011; 124: 1081 e1-7.
66. . Rebmann T. Carrico RM. Prevención de infecciones por *Clostridium difficile* : un resumen ejecutivo de la asociación para profesionales en control de infecciones y guía de eliminación de epidemiología.