



**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 INTESTINAL DE VANCOMICINA INYECTABLE  
ADMINISTRADA VÍA ORAL, SEGUIMIENTO A 12 HORAS EN UN MODELO  
EXPERIMENTAL”**

**TESIS QUE PRESENTA**

**DR. EDGAR OMAR CEBALLOS RMERO**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA**

**EN LA ESPECIALIDAD EN**

**GASTROENTEROLOGÍA.**

**ASESORES:**

**DRA. NAYELI XOCHIQUETZAL ORTÍZ OLVERA**

**DR. FERNANDO CALZADA BERMEJO**



---

**Ciudad Universitaria, CD. MX 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

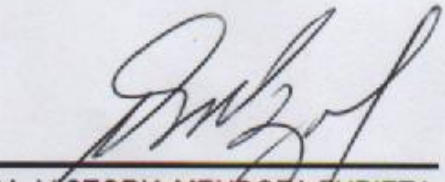


**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**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).

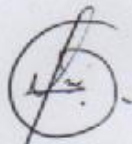
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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



---

DRA. VICTORIA MENDOZA ZUBIETA

JEFE DE LA DIVISI3N DE EDUCACI3N EN SALUD UMAE HOSPITAL DE  
ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI BERNARDO SEP3LVEDA

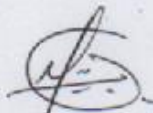


---

DRA. NAYELI XOCHIQUETZAL ORTÍZ OLVERA

PROFESORA TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACI3N EN  
GASTROENTEROLOGÍA

UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI BERNARDO SEP3LVEDA



---

DRA. NAYELI XOCHIQUETZAL ORTÍZ OLVERA

ASESOR CLÍNICO

ESPECIALIDAD: GASTROENTEROLOGÍA

MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE GASTROENTEROLOGÍA

UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI BERNARDO SEP3LVEDA



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



**Dictamen de Aprobado**

Comité Local de Investigación en Salud 0601,  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO  
XXI

Registro COFEPRIS 17 CI 05015 034  
Registro CONBIOTICA CONBIOETICA 09 CEI 023 2017082

FECHA: Miércoles, 19 de junio de 2019

M.C. NAYELI KOCHQUETZAL ORTIZ OLVERA

**PRESENTE**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **Biodisponibilidad intestinal de vancomicina inyectable administrada vía oral, seguimiento a 12 horas en un modelo experimental que sirvió a consideración para evaluación de este Comité 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 **APROBADO**.**

Numero de Registro Institucional:

R.2016-0501-111

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Para el primer año de vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requirirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE,

Dr. Carlos Fredy Cuevas García  
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 0601

Enviado:

IMSS

REGISTRO NACIONAL DE PRESTACIONES MÉDICAS

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios; por darme la oportunidad de ayudar a las personas.

A Karina y Omar; por ser mi alegría y amor siempre.

A mi Mamá y Papá; por su apoyo y amor incondicional todos estos años.

A mis hermanos por ayudarme siempre que los necesité.

A la Dra. Moreno, Dra. Bautista, Dr. Sandoval, Dr. Mayoral y Dra. Rodriguez por todas las enseñanzas que me dieron. En especial a la Dra. Nayeli X. Ortiz Olvera por ser nuestra coordinadora durante estos 3 años.

A todos mis compañeros y amigos que me ayudaron siempre.

Y a ti Lola.

## ÍNDICE

RESUMEN: .....	1
MARCO TEÓRICO .....	3
JUSTIFICACIÓN .....	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	13
OBJETIVO GENERAL .....	13
OBJETIVO SECUNDARIO .....	14
MATERIAL Y METODOS .....	14
DESCRIPCION DE LAS VARIABLES: .....	16
ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	19
CONSIDERACIONES ETICAS: .....	20
RESULTADOS.....	22
DISCUSIÓN.....	23
CONCLUSIONES.....	25
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	26

## RESUMEN:

### **BIODISPONIBILIDAD INTESTINAL DE VANCOMICINA INYECTABLE ADMINISTRADA VÍA ORAL, SEGUIMIENTO A 12 HORAS EN UN MODELO EXPERIMENTAL**

E.O. Ceballos-Romero, N.X. Ortiz-Olvera; F.Calzada-Bermejo; **Institución:** Hospital de Especialidades CMN SXXI, IMSS. **Ciudad:** Ciudad de México. México.

**Antecedentes:** La vancomicina (VCM) oral es el tratamiento de primera elección para la infección por *Clostridium difficile*. Se han evaluado diversas características de vancomicina oral; pero aún se desconoce si el intervalo de administración puede modificar la concentración fecal de VCM.

**Objetivo:** Determinar la concentración fecal de VCM durante 12 horas, cada 2 horas, después de la administración oral de VCM preparación inyectable (VCMi), dosis única de 250mg y 500mg, en un modelo experimental.

**Métodos:** Estudio preclínico, realizado en la Unidad de Investigación en Farmacología, utilizamos tres lotes, cada uno con 6 ratones macho de la cepa BALB/c, y administramos por vía intragástrica en: A) VCMi 250mg; B) VCMi 500 mg; y C) placebo, cada lote se colocó en una jaula metabólica y se recolectaron las muestras de heces a las 2, 4, 6, 8, 10 y 12 horas para posteriormente determinar la concentración de VCM fecal por cromatografía de líquidos de alta presión (CLAP). La cuantificación de vancomicina se realizó por interpolación del área del pico correspondiente al fármaco en una curva de calibración que se obtuvo con soluciones de VCM en concentraciones de 21.5, 43 y 86 µg/mL con una R<sup>2</sup> de 0.9933. Para evaluar diferencias se realizó análisis de varianzas con prueba ANOVA y prueba de corrección de Bonferroni.

**Consideraciones éticas:** El protocolo de estudio fue evaluado por el comité de investigación y ética del Hospital. El estudio se realizó con apego a la NOM-062-ZOO-1999 y a la Guía para el Uso y Cuidado de Animales de Laboratorio del NIH como marco de referencia internacional.

**Resultados:** Después de la administración intra-gástrica de VCMi 250mg, observamos que la concentración fecal de vancomicina a las 2h alcanzó su pico máximo de 665 mg/L, con disminución progresiva hasta las 12 h del muestreo, manteniendo durante 12h una concentración terapéutica contra *C. difficile*, pero sin alcanzar la MBC<sub>90</sub>. Después de la administración intragástrica de VCMi 500mg alcanzamos concentraciones terapéuticas contra *C. difficile* desde las primeras 2h y se logra mantener durante las 12 h del muestreo, y a partir de las 4 h alcanzamos la MBC<sub>90</sub>, y se mantiene durante 10 h.

**Conclusión:** La administración intragástrica de VCMi en dosis única de 250mg y 500mg alcanzaron una concentración superior a la terapéutica (CMI mayor a 4mg/L) contra *C. difficile* desde las primeras 2 h y hasta las 12 h de medición, con descenso progresivo; solo la dosis de 500mg logró alcanzar, hasta por 10h, la CBM<sub>90</sub> en heces, que es la concentración necesaria para producir una disminución del tamaño original del inóculo bacteriano en un porcentaje igual o mayor al 99.9%, que es superior a 1000 mg/L. Por lo anterior, proponemos evaluar si VCMi a dosis de 500mg de puede administrar con intervalos más prolongados de hasta cada 8 a 12h.

<b>1.- Datos del alumno</b>	
<b>Apellido paterno</b>	Ceballos
<b>Apellido materno</b>	Romero
<b>Nombre (s)</b>	Edgar Omar
<b>Teléfono</b>	Teléfono: 2281 04 5309
<b>Universidad</b>	Universidad Nacional Autónoma de
<b>Facultad</b>	México.
<b>Carrera</b>	Medicina.
<b>Número de cuenta</b>	Especialista en Medicina (Gastroenterología). 515216570
<b>2.- Datos del tutor</b>	
<b>Apellido paterno</b>	Ortíz
<b>Apellido materno</b>	Olvera
<b>Nombre (s)</b>	Nayeli Xochiquetzal  Calzada Bermejo Fernando
<b>3.- Datos de la tesis</b>	
<b>Título</b>	<b>BIODISPONIBILIDAD INTESTINAL DE VANCOMICINA INYECTABLE ADMINISTRADA VÍA ORAL, SEGUIMIENTO A 12 HORAS EN UN MODELO EXPERIMENTAL</b>
<b>Número de páginas</b>	30
<b>Año</b>	2019.
<b>Número de Registro</b>	F-2018 3601 217



## MARCO TEÓRICO

### ANTECEDENTES

La infección por *Clostridium difficile* (ICD) es la principal causa de diarrea nosocomial en los países industrializados. Recientemente se ha observado un incremento en la incidencia en Europa y Norteamérica. En América latina y particularmente en México, son pocos los estudios sobre prevalencia o incidencia de ICD, por lo que se desconoce el alcance real en nuestra población <sup>1-3</sup>. En nuestro país se reportó en un centro hospitalario de Monterrey una frecuencia de ICD del 20.7%, con mortalidad a 30 días del 8.4% <sup>4</sup>. La incidencia reportada en pacientes hospitalizados es de 1.1 casos/1,000 pacientes-día <sup>5</sup>.

Las guías internacionales de tratamiento para ICD, recomiendan dar tratamiento de acuerdo a la severidad del cuadro, y proponen el uso de antibióticos orales (metronidazol, vancomicina y fidaxomicina), y otras modalidades de tratamiento como el trasplante de microbiota fecal <sup>6,7</sup>. Por muchos años, el metronidazol fue recomendado como tratamiento de primera línea; sin embargo, a partir de 2017, las guías internacionales recomiendan como fármacos de primera línea la vancomicina y fidaxomicina oral, debido a un incremento en la recurrencia de ICD después del tratamiento con metronidazol <sup>8</sup>, la dosis recomendada de vancomicina oral es de 125 mg a 500 mg c/6h por 10-14 días [1,6-8]. La dosis óptima de vancomicina oral para ICD aún no ha sido bien establecida, a pesar de conocer la concentración mínima inhibitoria (CMI) de 0.5-8 mg/L <sup>9</sup>, y la concentración bactericida mínima (CBM<sub>90</sub>) superior a 1000 mg/L [10]; esto debido a que la biodisponibilidad de vancomicina en el intestino se puede modificar por la frecuencia de los movimientos intestinales y la consistencia de las deposiciones, entre otros factores del huésped <sup>10</sup>.

### VANCOMICINA

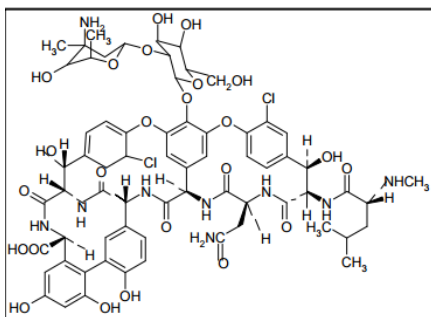
Fue aislado por primera vez en 1956 a partir de cepas de *Streptomyces orientalis*. Los cultivos de fermentación de este microorganismo resultaron ser bactericidas frente a cepas de estafilococos y otras bacterias gram-positivas.<sup>11</sup> Durante los estudios experimentales en ratones se encontró que la administración oral no tiene efecto sistémico; no se detectaron niveles de antibiótico en la sangre y muy poco en la orina, con niveles sanguíneos satisfactorios mediante inyección intravenosa.<sup>12</sup> Se aprobó en 1958 por la FDA, para el tratamiento de infecciones por cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a penicilina. En 1960 se comenzó a describir su uso

en enterocolitis pseudomembranas post antibióticos asociadas a *Staphylococcus aureus*<sup>13</sup>, posteriormente fue reportando series de caso en 1965 y 1966 con resultados satisfactorios en este tipo de enfermedad y fue que se utilizaron por primera ocasión la presentación intravenosa de forma oral.<sup>13,14,15.</sup>

A principios de los años 80 que 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.<sup>11, 16.</sup>

Fue caracterizada en 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).

17



**Figura 1. Fórmula molecular de vancomicina.**

Es un glicopéptido con dos unidades de  $\beta$ -hidroxiclorotirosina, 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.<sup>17</sup>

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 pentapéptido de la bacteria, interfiriendo en las reacciones de transglucosilación y transpeptidación, y por lo tanto en el ensamblaje del peptidoglicano (Figura 2).<sup>17</sup>

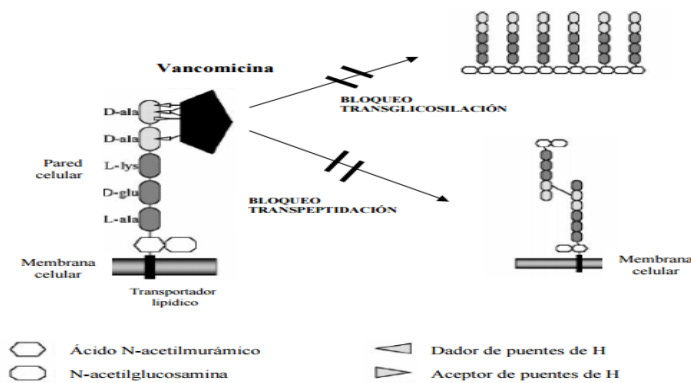


Figura 2. Mecanismo de acción de la vancomicina.

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 glucopéptidos.<sup>17,18.</sup>

Un segundo mecanismo de acción complementario que contribuye, es la formación de homodímeros entre las moléculas de glicopéptido, confiriendo rigidez estructural que interfiere estéricamente en la prolongación de la cadena de peptidoglicano.<sup>18</sup> Alterando la permeabilidad de la membrana celular e impide la correcta síntesis de RNA de la bacteria.

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* spp<sup>8</sup>; bacteriostático frente a: *Enterococcus faecalis* y *E faecium*.<sup>8</sup>

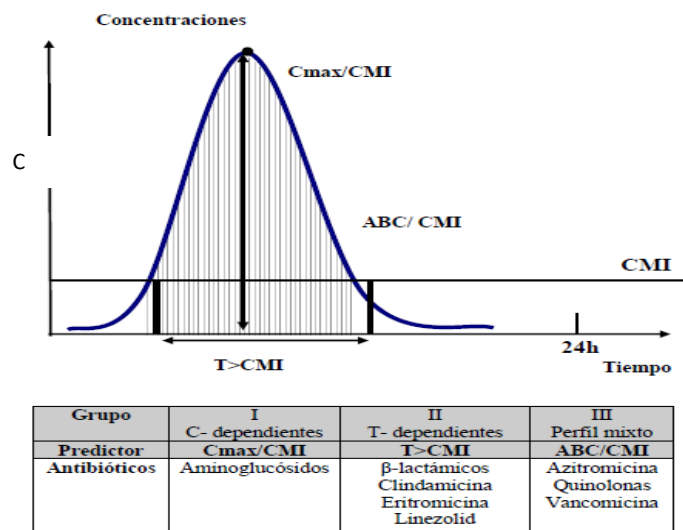
La concentración mínima inhibitoria (CMI) de vancomicina frente a diferentes microorganismos varían en un amplio rango (0.25-256mg/l).<sup>9</sup>

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

<b>Tabla 1.</b> Concentración mínima inhibitoria de vancomicina contra algunos microorganismos.	
<b>MICROORGANISMO</b>	<b>CMI (mg/L)</b>
<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

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.<sup>17,18</sup>

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.<sup>9,19</sup>



C= concentración; T= tiempo.

Figura 3. Relación entre el tiempo y la concentración que un antibiótico alcanza como objetivo terapéutico.

- INDICACIONES

La vancomicina puede ser administrada por vía intravenosa para infecciones sistémicas por microorganismos sensibles y es principalmente reservada para infecciones por *Staphylococcus* metil-resistente o por vía oral, con indicación por esta última vía solamente infección por *Clostridium difficile*.

De acuerdo a la última publicación por la sociedad de Enfermedades Infecciosas de América (IDSA) y la sociedad para la epidemiología de la Atención Médica de América (SHEA)<sup>8</sup>, vancomicina es el tratamiento de elección de forma inicial para el episodio inicial no severo, episodio inicial severo, episodio inicial fulminante y primera recurrencia. La vía de administración es oral en todos los casos a excepción del episodio inicial fulminante donde en caso de íleo puede ser administrada por vía rectal en forma de enemas con un nivel de recomendación débil y calidad de evidencia bajo. La frecuencia de administración oral es cada 6 horas en todos los casos a excepción de la primera recurrencia donde existe un régimen alternativo por pulsos y variación de la frecuencia durante 2 a 8 semanas, de igual forma con nivel de recomendación Débil y calidad de la evidencia bajo. A continuación se presenta en forma de tabla dichos esquemas.

**Recomendaciones para el tratamiento de la infección por *Clostridium difficile* en adultos IDSA 2017 <sup>8</sup>**

<b>Definición clínica</b>	<b>Datos clínicos de apoyo</b>	<b>Tratamiento recomendado <sup>a</sup></b>	<b>Fuerza de la Recomendación / Calidad de la evidencia</b>
Episodio inicial, no severo	Leucocitosis con un recuento de glóbulos blancos de $\leq 15000$ células / ml y un nivel de creatinina sérica $< 1,5$ mg / dL	• VAN 125 mg administrado 4 veces al día durante 10 días, O	Fuerte / Alto
		• FDX 200 mg dos veces al día durante 10 días	Fuerte / Alto
		• Alternativo si los agentes anteriores no están disponibles: metronidazol, 500 mg 3 veces al día por vía oral durante 10 días	Débil / Alto
Episodio inicial, severo <sup>b</sup>	Leucocitosis con un recuento de glóbulos blancos de $\geq 15000$ células / ml o un nivel de creatinina sérica $> 1,5$ mg / dL	• VAN, 125 mg 4 veces al día por vía oral durante 10 días, O	Fuerte / Alto
		• FDX 200 mg dos veces al día durante 10 días	Fuerte / Alto
Episodio inicial, fulminante.	Hipotensión o shock, íleo, megacolon.	• VAN, 500 mg 4 veces al día por vía oral o por sonda nasogástrica. Si existe íleo, considere	Fuerte / Moderado (VAN oral); Débil / bajo (VAN

Definición clínica	Datos clínicos de apoyo	Tratamiento recomendado <sup>a</sup>	Fuerza de la Recomendación / Calidad de la evidencia
		<p>agregar instilación rectal de VAN. El metronidazol administrado por vía intravenosa (500 mg cada 8 horas) debe administrarse junto con VAN oral o rectal, especialmente si hay íleo presente.</p>	<p>rectal); Fuerte / Moderado (metronidazol intravenoso)</p>
Primera recurrencia	...	<ul style="list-style-type: none"> <li>• VAN 125 mg administrado 4 veces al día durante 10 días si se utilizó metronidazol para el episodio inicial, O</li> <li>• Use un régimen de VAN por pulsos y de forma prolongada si se utilizó un régimen estándar para el episodio inicial (p. Ej., 125 mg 4 veces al día durante 10 a 14 días, 2 veces al día durante una semana, una vez al día durante una semana, y luego</li> </ul>	<p>Débil / bajo</p> <p>Débil / bajo</p>

<b>Definición clínica</b>	<b>Datos clínicos de apoyo</b>	<b>Tratamiento recomendado <sup>a</sup></b>	<b>Fuerza de la Recomendación / Calidad de la evidencia</b>
		<p>cada 2 o 3 días durante 2–8 semanas), O</p> <hr/> <ul style="list-style-type: none"> <li>• FDX 200 mg administrados dos veces al día durante 10 días si se utilizó VAN para el episodio inicial</li> </ul>	Débil / moderado
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• VAN en un régimen cónico y pulsado, O</li> </ul> <hr/> <ul style="list-style-type: none"> <li>• VAN, 125 mg 4 veces al día por vía oral durante 10 días, seguido de rifaximina 400 mg 3 veces al día durante 20 días, O</li> </ul> <hr/> <ul style="list-style-type: none"> <li>• FDX 200 mg administrados dos veces al día durante 10 días, O</li> </ul> <hr/> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Trasplante de microbiota fecal <sup>c</sup></li> </ul>	Débil / bajo
Segunda o posterior recurrencia.	...		Débil / bajo
			Fuerte / Moderado

Abreviaturas: FDX, fidaxomicina; VAN, vancomicina.

<sup>a</sup> Todos los ensayos aleatorios han comparado los cursos de tratamiento de 10 días, pero algunos pacientes (especialmente los tratados con metronidazol) pueden tener



una respuesta tardía al tratamiento y los médicos deben considerar extender la duración del tratamiento a 14 días en esas circunstancias.

<sup>b</sup> Los criterios propuestos para definir la infección grave o fulminante por *Clostridium difficile*(CDI) se basan en la opinión de expertos. Es posible que deban revisarse en el futuro luego de la publicación de los puntajes de gravedad validados prospectivamente para los pacientes con CDI.

En México no se encuentra disponible en el mercado la presentación oral, por lo que se utiliza la presentación intravenosa y se administra por vía oral, con resultados satisfactorios, pero sin evidencia científica que apoye la estrategia utilizada.

- **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  $\geq 60$  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.<sup>2</sup>

- 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.<sup>21</sup>

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. <sup>21</sup>

En México solo se dispone de la presentación intravenosa, y la información sobre vancomicina inyectable administrada por vía oral y su biodisponibilidad en tubo digestivo, principalmente en colon, aún es poco conocida. Recientemente se realizó un estudio preclínico para evaluar la biodisponibilidad intestinal de vancomicina inyectable (VCMi) administrada por vía oral, y se describe que la administración de VCMi 125 mg alcanzó la concentración mínima inhibitoria desde las primera 2 horas, sin lograr alcanzar la CBM90, en cuanto a la administración de VCMi 500 mg desde las primeras 2 horas alcanzo la CMI y CBM90, con incremento progresivo de la concentración en heces hasta las 6 horas, se desconoce hasta cuanto tiempo posterior al inicio de la administración de vancomicina oral se logre esta concentración. <sup>2,3,23- 26</sup>

## **JUSTIFICACIÓN**

La infección por *Clostridium difficile* presenta un incremento dramático en el número de casos en todo el mundo, en la última década.<sup>19,7</sup>

De acuerdo a la severidad de la enfermedad, se ha establecido el tratamiento; en 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 trasplante de microbiota<sup>7</sup>. La dosis recomendada de vancomicina es de 125mg c/6h vía oral por 10 días en casos moderados, y se recomiendan 500mg c/6h vía oral en las formas severas a complicadas por 10-14 días.<sup>7</sup> La concentración mínima inhibitoria de vancomicina para *Clostridium difficile* es de 0.5-4mg/l; sin embargo, la CBM90, que es la concentración necesaria de vancomicina para producir una

disminución del tamaño original del inóculo bacteriano en un porcentaje igual o mayor al 99.9%, fue superior a 1000 mg/L, presumiblemente debido a la supervivencia de las esporas.<sup>5</sup>

Actualmente en México no se encuentra disponible en el sector público ni privado la presentación de vancomicina vía oral. En la práctica clínica se ha utilizado la presentación intravenosa en forma diluida cada 6 h, con resultados satisfactorios; sin embargo, se desconoce si la concentración de vancomicina en heces, después de la administración oral alcanza y mantiene concentraciones terapéuticas.

En este estudio se propone determinar la concentración fecal de vancomicina, a 6 diferentes tiempos, después de la administración oral de VCMi reconstituida, una sola dosis de 250mg y 500mg, en un modelo experimental. Y evaluar si VCMi alcanza la concentración mínima inhibitoria en heces en determinados momentos. Se propone realizar el ensayo en un modelo de ratón macho, de la cepa Balb-C, debido a que el tracto gastrointestinal de esta cepa murina, tiene un comportamiento fisiológico y de respuesta inmune similar al del ser humano. Asimismo, no exponemos a los sujetos, las muestras son recolectadas de manera homogénea, en periodos cortos y regulares, lo cual facilitará el análisis. Se reconoce que un buen estudio de disponibilidad requeriría un enfoque diferente, como son el uso de un biomarcador intestinal y la recolección total de heces durante un período suficiente para confirmar la excreción de 95-100% de la dosis, por lo que proponemos realizar la recolección de heces durante 12 horas.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿La administración oral de vancomicina inyectable alcanza una concentración terapéutica en heces hasta las 8h, y probablemente hasta 12 horas, después de su administración por vía oral?

## **OBJETIVO GENERAL**

1.- Determinar la concentración de vancomicina en heces en 6 diferentes tiempos, con medición cada 2 horas hasta 12 horas, después de la administración oral de una sola dosis de vancomicina inyectable de 250 mg y 500mg, en un modelo experimental.

## **OBJETIVO SECUNDARIO**

1. Determinar la concentración de vancomicina en heces, administrada por vía oral a dosis de 250 mg durante 12 horas.
2. Determinar la concentración de vancomicina en heces, administrada por vía oral a dosis de 500mg durante 12 horas.

## **DESCRIPCION DEL PROYECTO**

Estudio experimental sobre la base de un modelo de ratón macho de la cepa Balb-c divididos en 3 lotes (de acuerdo a la dosis de vancomicina) con 6 ratones por cada lote, se les administrará vancomicina (250 mg y 500mg), y un lote placebo por vía oral; determinando la concentración de vancomicina en heces cada 2 horas hasta 12 horas.

## **MATERIAL Y METODOS**

**DISEÑO DEL ESTUDIO:** Ensayo experimental.

### ***Población de estudio***

Se utilizaron ratones (*Mus musculus*) cepa Balb-C, haloxénico, engendrado y producido en condiciones controladas con claros antecedentes genéticos y microbiológicos. Es mamífero de sangre caliente, hábitos nocturnos de comportamiento influenciado por feromonas. Posee un agudo sentido de la audición, por lo que se alteran rápidamente con los ruidos. Su sentido del olfato está muy desarrollado. Su visión es muy pobre y no pueden percibir colores. En la órbita del ojo posee unas glándulas con forma de herradura llamadas glándulas Harderianas, cuando el ratón está en estrés, excreta en la zona periorcular una sustancia de color marrón llamada porfirina. Por su pequeño tamaño son muy susceptibles a cambios ambientales, puesto que una variación de la temperatura entre 2-3°C, puede afectar su temperatura corporal y modificar su fisiología. El tamaño del ratón adulto varía entre 12 a 15cm desde la punta de la nariz a la punta de la cola y pesa aproximadamente 20 ± 2 g. Tiene una vida útil de 10 a 12 meses y se obtiene de 8 a 10 camadas. Es un animal sociable y se mantiene en grupos sin ningún inconveniente.



Se emplearon ratones machos de 6 semanas de edad, sanos de 21.8 g( $\pm$  0.47) de peso. Se mantuvieron dentro del bioterio de Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, en un cuarto de alojamiento, dentro de cajas de 468 cm<sup>2</sup> y altura de 12cm, fabricadas con plástico transparente con tapa removible y perforada, con piso sólido cubierto en su totalidad con viruta de madera. Cada caja contenía 6 ratones identificados con líneas horizontales de tinta en sus colas. Los ratones estuvieron en un ambiente controlado, 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 las 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 la

norma oficial mexicana de técnica para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio, y por las guías del Consejo Internacional de Organizaciones Médicas (CIOMS) para Investigación Biomédica con Animales que señalan los criterios éticos que deben seguirse en el manejo y cuidado de animales experimentales. Tienen su base en el principio de las tres Rs formulado por William Russell y Rex Burch en 1959. Con antecedente en el trabajo de Marshall Hall de 1831. Las tres Rs se corresponden con: Reemplazo, Reducción y Refinamiento

**DESCRIPCION DE LAS VARIABLES:** Según la metodología.

**VARIABLE INDEPENDIENTE:** Vancomicina inyectable.

**VARIABLE DEPENDIENTE:** Concentración en heces de vancomicina.

**Vancomicina inyectable:** Clorhidrato de VCM en polvo, equivalente a 500 mg de VCM base; del laboratorio PISA con el nombre de Vanaurus (Guadalajara, Jalisco, México; Reg. No. 487M96 SSA. IPP-A: GEAR-108175/RM 2002). Es un glicopéptido con dos unidades de  $\beta$ - hidroxyciclotirosina, tres núcleos de fenilglicina y N-metil-leucina; anillos aromáticos y un disacárido formado por una molécula de glucosa y un aminoazúcar.

**Concentración en heces de vancomicina:** interpolación del área del pico correspondiente al fármaco en una curva de calibración obtenida con soluciones de VCM en concentraciones de 21.5, 43 y 86  $\mu\text{g/mL}$  con una  $R^2$  de 0.9933, en heces.

<b><i>Nombre de la variable</i></b>	<b><i>Tipo de variable</i></b>	<b><i>Escala de medición</i></b>	<b><i>Definición operacional</i></b>
Agua inyectable	<b><i>Nominal</i></b>	<b><i>Presente</i></b>	Agua indicada como diluyente o disolvente de medicamentos por vía intravenosa
Vancomicina	<b><i>Nominal</i></b>	<b><i>Presente</i></b>	Antibiótico glicopéptido que se sintetiza de modo natural por <i>Nocardia Orientalis</i>

## MATERIAL

La fórmula inyectable de VCM, contiene clorhidrato de VCM en polvo, equivalente a 500mg de VCM base; fue adquirida del laboratorio PISA con el nombre de Vanaurus (Guadalajara, Jalisco, México; Reg. No. 487M96 SSA. IPP-A: GEAR-108175/RM 2002). Se utilizó agua inyectable como vehículo.



## Procesamiento metodológico

El polvo de clorhidrato de VCM se pesó en una balanza analítica (Ohaus, Analytical Plus), para obtener la dosis necesaria para cada ratón, y fue reconstituido en su diluyente, para esta investigación a razón de 1 ml por dosis. La dosis de clorhidrato de VCM administrada fue de 3.56 mg / kg de peso de ratón, equivalente a 250mg de vancomicina, y 7.14 mg/ kg de peso de ratón, equivalente a 500 mg de vancomicina. Posteriormente, la VCMi reconstituida fue administrada como se indica:

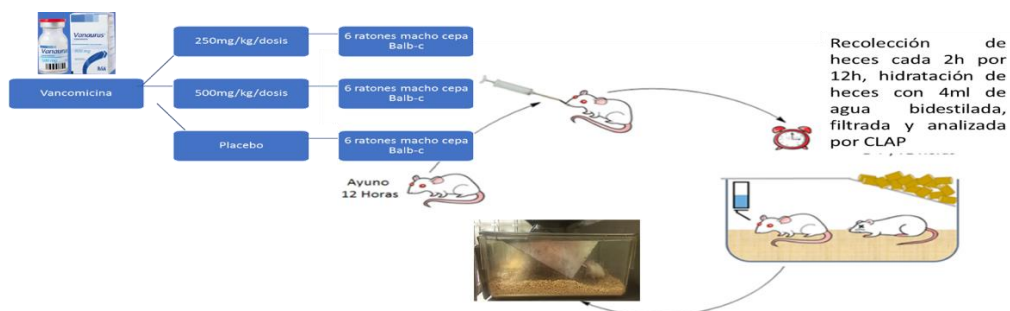
Lote A) VCMi250mg en agua inyectable

Lote B) VCMi500mg en agua inyectable

Lote C) placebo, vehículo.

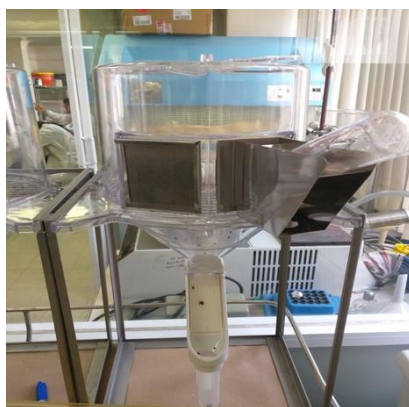
## ADMINISTRACIÓN ORAL DE VANCOMICINA

En el estudio se utilizaron tres lotes, con 6 ratones cada uno, en el lote A) administramos VCMi 250mg, en el lote B) administramos VCMi 500mg, y en el lote C) administramos placebo; la VCMi reconstituida fue administrada vía intra-gástrica, con una cánula oro-gástrica.



## **ENSAYO DE VANCOMICINA (ANÁLISIS, CUANTIFICACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN)**

Después de la administración de VCMi, se colocaron los ratones en jaulas metabólicas, cada lote en una jaula independiente, y se tomaron muestras de heces a las 2, 4, 6, 8, 10 y 12h 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 analogv ortexmixer 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 rpm, durante 10 minutos. La totalidad del sobrenadante se filtró (filtros PALL de 0.45  $\mu\text{m}$ , Nylon acrodic 13  $\mu\text{m}$ ), y del filtrado obtenido se inyectaron 20  $\mu\text{l}$  en el cromatógrafo de líquidos de alta presión (CLAP) para la cuantificación de VCM.





El análisis de VCM se efectuó en un CLAP (Waters, modelo 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 VCM se hizo por interpolación del área del pico correspondiente al fármaco en una curva de calibración obtenida con soluciones de VCM en concentraciones de 21.5, 43 y 86 µg/mL con una R<sup>2</sup> de 0.9933.

### **ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO**

Los parámetros medidos incluyeron el tiempo de ejecución (RT), y el área bajo la curva de la concentración de VCM en heces, por cuantificación en muestras fecales-tiempo (AUC). La concentración de VCM 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 VCM. 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.

## **CONSIDERACIONES ETICAS:**

Se consideró como objetivo importante 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 tendrán en cuenta el respeto, afecto y gratitud. Se siguió el principio de las tres R propuesta por William Russel y Rex Burch 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 se siguió las normas de buenas prácticas de laboratorio y para evitar riesgos ocupacionales. La manipulación de los animales de laboratorio se realizó en apego a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, sobre técnicas para el cuidado y uso de animales de laboratorio. En el apartado 4 correspondiente a las disposiciones generales de uso de animales, 5.1.2, Salud animal, 5.1.3, y 5.1.6. Manejo de animales en experimentación. Los animales de laboratorio se mantuvieron y se manipularon en el Bioterio del CMN S XXI y al final del estudio los animales se sacrificaron de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999 en su artículo 9 empleando cámaras de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). En este sentido los animales una vez cumplido el proceso de investigación se transportaron en jaulas sin someterlos a ningún proceso de estrés y manipulación que induzca daño corporal hasta las cámaras de CO<sub>2</sub> donde permanecieron hasta su muerte. Con la finalidad de evitar riesgos ocupacionales los cadáveres se manejaron bajo normas de buenas prácticas de laboratorio que incluyen su depósito en contenedores rojos de acuerdo al manual de bio-seguridad en el laboratorio de la OMS. Los cuales finalmente fueron depositados en los contenedores RPBI del Bioterio de CMN SXXI, para después ser procesados por personal especializado.<sup>28,29</sup>

### **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.

## RESULTADOS.

De los 18 ratones incluidos en este estudio, el peso corporal promedio fue de 21.8 g( $\pm 0.47$ ); y el peso promedio de las heces en los tres lotes fue 0.185g.

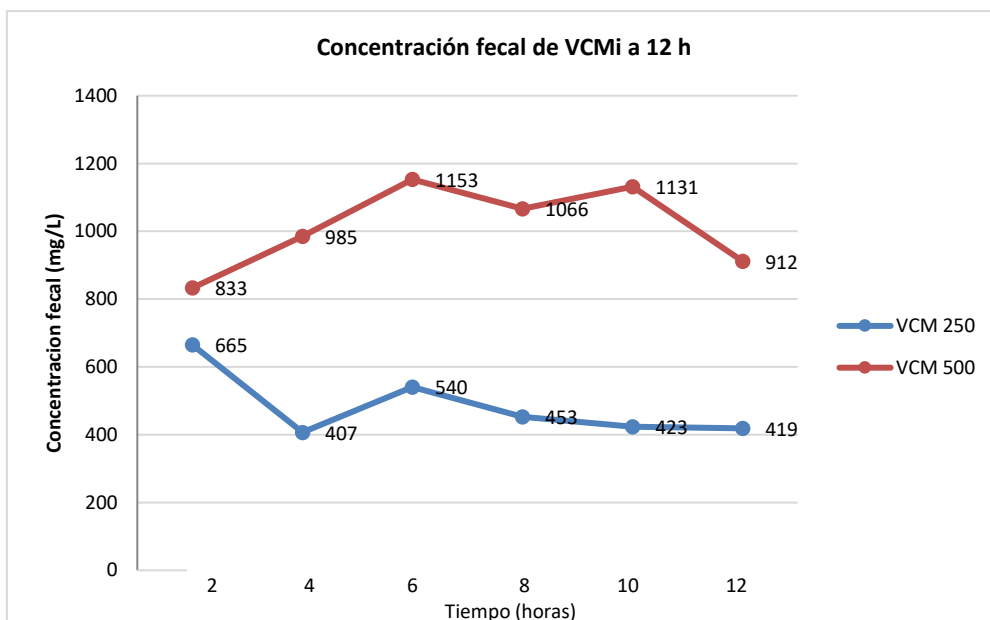
Control Agua inyectable													
Lote 1	Peso	Heces 2h		Heces 4h		Heces 6h		Heces 8h		Heces 10h		Heces 12h	
		Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso
	23	68	1.2543	11	0.137	7	0.0934	11	0.1207	9	0.117	8	0.1133
	26												
	24												
	24												
	22												
	25												
	23	38	0.7122	6	0.1366	3	0.0403	4	0.0402	6	0.0367	11	0.1721
	23												
	21												
	24												
	24												
	23												

Vancomicina 250 mg/kg + agua inyectable													
Lote 1	Peso	Heces 2h		Heces 4h		Heces 6h		Heces 8h		Heces 10h		Heces 12h	
		Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso
1	19	62	0.3585	23	0.08118	14	0.0467	5	0.055	7	0.0506	25	0.1696
2	23												
3	22												
4	19												
5	20												
6	23												
1	19	58	0.9232	9	0.0781	11	0.0975	7	0.0588	18	0.1864	12	0.0626
2	23												
3	22												
4	19												
5	20												
6	23												
1	23	65	0.6383	16	0.1702	3	0.0319	5	-0.0027	0	-0.5614	7	0.0947
2	26												
3	24												
4	24												
5	22												
6	25												

Vancomicina 500 mg/kg + agua inyectable													
Lote 1	Peso	Heces 2h		Heces 4h		Heces 6h		Heces 8h		Heces 10h		Heces 12h	
		Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso	Piezas	Peso
1	19	62	0.4523	19	0.06571	13	0.0365	14	0.1666	7	0.0582	32	0.2444
2	23												
3	22												
4	19												
5	20												
6	23												
1	19	42	0.5926	11	0.1032	12	0.0918	14	0.1801	31	0.3522	15	0.0759
2	23												
3	22												
4	19												
5	20												
6	23												
7	23	70	1.06557	22	0.1924	9	0.0583	9	-0.4901	8	0.0527	10	0.0911
8	23												
9	21												
10	24												
11	24												
12	23												

Después de la administración intragástrica de VCMi 250mg, observamos que la concentración fecal de vancomicina a las 2h alcanzó su pico máximo de 665 mg/L, con disminución progresiva hasta las 12 h del muestreo, manteniendo durante 12h una concentración terapéuticas contra *C. difficile*, pero sin alcanzar la MBC<sub>90</sub>. Después de

la administración intragástrica de VCMi 500mg alcanzamos concentraciones terapéuticas contra *C. difficile* desde las primeras 2h y se logra mantener durante las 12 h del muestreo, y a partir de las 4 h alcanzamos la MBC<sub>90</sub> durante 10 h, como se muestra en la figura 1.



La comparación entre las diferentes dosis de VCMi (250 mg y 500 mg), muestran diferencias no significativas en la concentración fecal de vancomicina a las 2 h (ANOVA,  $p=0.1$ ); sin embargo, a partir de las 4 h y hasta las 12 h, si encontramos diferencias significativas entre las dos dosis (ANOVA,  $p= 0.0005$ ).

## DISCUSIÓN.

Ante la falta de VCM en presentación oral, comercialmente disponible en México, se ha utilizado la VCMi reconstituida administrada por vía oral para el tratamiento de diarrea aguda asociada a ICD, con resultados clínicos satisfactorios; sin embargo, aún son escasos los estudios que evalúen la concentración fecal de VCMi reconstituida durante las primeras 12 horas, después de la administración de dosis única de VCMi. En nuestro estudio, encontramos que la administración de VCMi en dosis única de 250mg y 500mg alcanzaron una concentración superior a la terapéutica (CMI mayor a 4mg/L) contra *C. difficile* desde las primeras 2 h y hasta las 12 h de medición, con descenso progresivo; solo la dosis de 500mg logró alcanzar, hasta por 10h, la CBM<sub>90</sub> en heces, que es la concentración necesaria para producir una disminución del tamaño

original del inóculo bacteriano en un porcentaje igual o mayor al 99.9%, que es superior a 1000 mg/L(9).

En 1987, se reportó la combinación de clorhidrato de VCM en polvo con polietilenglicol 6000, y se comparó con VCM solución oral, a dosis de 125mg y 250mg cada 6h, en voluntarios sanos. Reportando buena tolerancia y apego al tratamiento, los niveles de VCM en heces fueron comparables con dosis equivalentes en ambos grupos, aunque hubo algunas variaciones intragrupo e intrapersona. La concentración en heces excedió la CMI de 10 a 100 veces, sin absorción sistémica o toxicidad (30).

Emson y cols, evaluaron la estabilidad de VCMi, reconstituida y almacenada en vasos de dosis unitarias y botellas de plástico en condiciones de refrigeración (4°C) y a temperatura ambiente a 25°C durante 75 días. En el momento de la preparación y a los 15, 30, 40, 50, 63, y 75 días, se obtuvieron 3 alícuotas de cada uno de los recipientes de almacenamiento (botellas y vasos, distribuidos aleatoriamente). Se evaluaron las características físicas, el pH, el color y la precipitación de VCMi. Las muestras se analizaron en un cromatógrafo de líquidos, por triplicado. En este estudio, no se observaron cambios notables en color, sabor, o el pH en las soluciones de VCMi almacenadas en los vasos y las botellas a 4°C o 25°C durante el periodo de estudio de 75 días; sin embargo no se evaluó biodisponibilidad de VCM (31).

En 2010, en Canadá posterior al brote de la cepa NAP1/B1/027, con base a la elevada tasa de resistencias a metronidazol, y ante la falta de disponibilidad de VCM oral y su alto costo, se evaluó la farmacocinética de VCMi administrada por vía oral a dosis de 125mg, 250mg y 500mg, en sujetos con sospecha de IDC y en sujetos con IDC confirmada, y se determinó la concentración de VCM en heces por día, durante 14 días, concluyendo que en ambos grupos, los niveles de VCM en heces fueron proporcionales a los previamente reportados con VCM en capsulas, con variaciones sustanciales intragrupo e intrapersona en el transcurso de los días de medición (32). Con base a estos resultados, nos propusimos evaluar la concentración fecal de VCM a 12 h, en periodos cortos y regulares, lo cual puede impactar en el resultado clínico y pronóstico, y encontramos que la VCM permanece en heces en concentraciones terapéuticas durante 12h.

Decidimos realizar el ensayo en un modelo de ratón macho, de la cepa Balb-C, debido a que el tracto gastrointestinal de esta cepa murina, tiene un comportamiento fisiológico y de respuesta inmune similar al del ser humano (33). Asimismo, no exponemos a los sujetos, las muestras son recolectadas de manera homogénea, en

periodos cortos y regulares, lo cual facilita el análisis. Se reconoce que un buen estudio de disponibilidad requeriría un enfoque diferente, como son el uso de un biomarcador intestinal y la recolección total de heces durante un período suficiente para confirmar la excreción de 95-100% de la dosis, por lo que sugerimos hacer recolección de las muestras, al menos durante las primeras 12 horas.

Dentro de las limitantes de nuestro estudio podemos mencionar que no se realizó la recolección de heces durante un período suficiente para confirmar la excreción de 95-100% de la dosis y evaluar si permanece a concentraciones terapéuticas más allá de 12 h; no se utilizó un biomarcador intestinal, y no se midieron concentraciones séricas de vancomicina, a pesar de que ya es conocida su pobre absorción sistémica; asimismo, consideramos que es necesario realizar un ensayo en un modelo experimental con infección por *C. difficile*, para evaluar si la concentración fecal de VCMi se modifica por las variantes propias del cuadro, en cuanto a inflamación y motilidad.

## **CONCLUSIONES**

En nuestro estudio, encontramos que la administración intragástrica de VCMi en dosis única de 250mg y 500mg alcanzaron una concentración superior a la terapéutica (CMI mayor a 4mg/L) contra *C. difficile* desde las primeras 2 h y hasta las 12 h de medición, con descenso progresivo; solo la dosis de 500mg logró alcanzar, hasta por 10h, la  $CBM_{90}$  en heces, que es la concentración necesaria para producir una disminución del tamaño original del inóculo bacteriano en un porcentaje igual o mayor al 99.9%, que es superior a 1000 mg/L. Por lo anterior, proponemos evaluar si VCMi a dosis de 500mg se puede administrar con intervalos más prolongados de hasta cada 8 a 12h.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Leffler DA, Lamont JT. Clostridium difficile infection. N Engl J Med 2015;372:1539-48.
- 2.- Balassiano IT, Yates EA, Domingues RM. Clostridium difficile: a problem of concern in developed countries and still a mystery in Latin America. J Med Microbiol 2012; 61: 169-79.
- 3.- Camacho-Ortiz A, Ponce-de-León A, Sifuentes-Osornio J. Clostridium difficile associated disease in Latin America. Gac Med Mex 2009; 145 : 223-29.
- 4.- 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.
- 5.- 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.
- 6.- Surawicz CM, Brandt LJ, et al, Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections. Am J Gastroenterol 2013;108:478-98
- 7.- Crobach MJ, Planché 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.
- 8.- McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection. CID 2018;66(7):987-94.
- 9.- Jacques Pepin, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 46, Issue 10, 15 May 2008, Pages 1493–1498, <https://doi.org/10.1086/587656>
10. Baird DR. Comparison of two oral formulations of vancomycin for treatment of diarrhea associated with Clostridium difficile. J Antimicrob Chemother 1989;23(1):167-9
- 11.- Levine DP. Vancomycin: A history. Clin Infect Dis 2006; 42 (supp1):S5-S12.
- 12.- Meetings Mayo Clinic 1956 Vol.31 No.21 pp.564-82
- 13.- Dearing, W. H., Baggenstoss, A. H., and Weed, L. A. Studies on relationship of Staphylococcus Aureus to Pseudomembranous enteritis and to posantibiotic enteritis, Gastroenterology 38: 441-451, 1960
- 14.- Khan My, Hall Wh. Staphylococcal Enterocolitis—Treatment with Oral Vancomycin. Ann Intern Med. 1966;65:1–8. doi: 10.7326/0003-4819-65-1-
- 15.- Wallace JF, Ronald H. Smith RH, Petersdorf RJ. Oral Administration of Vancomycin in the Treatment of Staphylococcal Enterocolitis N Engl J Med 1965; 272:1014-1015



- 16.- Walsh TR, Howe RA. The prevalence and mechanisms of Vancomycin resistance in *Staphylococcus Aureus*. *Annu Rev Microbiol* 2002; 56: 657-75.
- 17.- Sweetman S. Vancomycin. Martindale: The Complete Drug Reference. London: Pharmaceutical Press. Electronic version. 2007.
- 18.- Van-Bambeke F, Laethem YV, Courvalin P, Tulkens PM. Glycopeptide antibiotics: from conventional molecules to new derivatives. *Drugs* 2004; 64(9):913- 36.
- 19.- European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing-Eucast [online]. <http://www.eucast.org>.
- 20.- Salemi C, Becker L, Morrisey 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.
- 21.- Finch RG, Eliopoulos GM. Safety and efficacy of glycopeptides antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55(Suppl 2):ii5-ii13.
- 22.- Pootoolal J, Neu J, Wright GD. Glycopeptide antibiotic resistance. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002; 42:381-408.
- 23.- 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.
- 24.- 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.
- 25.- Ramos-García J, Ortiz-Olvera N, Robles-Rivera FJ, et al. Biodisponibilidad oral de vancomicina inyectable en un modelo Experimental. *Revista de Gastroenterología de México* 2017;**82(Supl 2)**:150-186
- 26.- Robles-Rivera FJ, Ortiz-Olvera N, Ramos-García J, et al. Biodisponibilidad oral de vancomicina utilizando tres vehiculos diferentes en un modelo experimental. *Revista de Gastroenterología de México* 2017;**82(Supl 2)**:150-186
- 27.- 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.
- 28.- Rodriguez Yunta E. Desafios éticos de la investigación con animals, manipulacion genetic. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2012;29(4):535-40.
- 29.- NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

- 30.- Lucas RA, Bowtle WJ, Ryden R. Disposition of vancomycin in healthy volunteers from oral solution and semi-solid matrix capsules. *J Clin Pharm Ther.* 1987;12(1):27-31).
- 31.- Ensom MHH, Decarie D, Lakhani A. Stability of Vancomycin 25 mg/mL in Ora-Sweet and Water in Unit-Dose Cups and Plastic Bottles at 4°C and 25°C. *Can J Hosp Pharm* 2010;63(5):366–372
32. Gonzales M, Pepin J, Frost EH, Carrier JC, Sirard S, Fortier LC, Valiquette L. Faecal pharmacokinetics of orally administered vancomycin in patients with suspected *Clostridium difficile* infection. *BMC Infec dis* 2010;10:363-70.
33. Bedell MA, Largaespada DA, Jenkins NA, Copeland N. 1997. Mouse models of human disease. Part II: Recent progress and future directions. *Genes & Development* 11: 11 – 43.