

Farmacocinética de tres mezclas de sulfonamidas con trimetoprim en cerdos, mediante una técnica cualitativa-cuantitativa

Héctor Sumano López*
Luis Ocampo Camberos*
Gustavo Abascal Torres**

Abstract

In order to evaluate the pharmacokinetics of three mixtures of sulfonamide-trimethoprim 21 mix-bred pigs, weighing 20 kg approximately, were randomly divided in three groups of 7 animals each. Each of the seven animals per group were dosed with 100 mg/kg of the following mixtures: sulfachlorpyridazine-trimethoprim (SCP-TMP); sulfamonomethoxine-trimethoprim (SMM-TMP) and sulfamethoxazole-trimethoprim (SMX-TMP) initially iv, respectively, and 15 days later orally as a bolus. Blood samples were collected by venipuncture of the auricular veins at increasing intervals, and the serum was separated by clotting and centrifugation. Serum samples were stored at -4°C , until analysis. Determination of serum concentrations of the mixture were carried out by the bacteriological agar-diffusion test, using pig serum as the vehicle and a sensitive strain of *Escherichia coli* as the test organism, with an intra-assay variation coefficient of 8%. Computer assisted compartmental pharmacokinetics was carried out. Results indicate greater bioavailability, higher peak serum concentrations and better apparent volumes of distribution for SCP-TMP. Although elimination half life values were slightly longer for SMM-TMP and SMX-TMP, clearance did not vary substantially among the three mixtures. It is concluded that there are important pharmacokinetic variations among these three apparently bioequivalent sulfonamide-trimethoprim mixtures. Information on the impact of these variations in clinical settings are discussed.

Key words: SULFONAMIDES, TRIMETHOPRIM, PHARMACOKINETICS, BIOAVAILABILITY, PIGS.

Resumen

Con la finalidad de evaluar la farmacocinética de tres mezclas de sulfonamida con trimetoprim, se utilizaron 21 cerdos criollos de 20 kg de peso, divididos al azar en tres grupos de 7 cerdos cada uno. A los siete cerdos de cada grupo se les administró, por vía iv en una primera fase y por vía oral (dosis bolo) 15 días después, 100 mg/kg de las siguientes mezclas: sulfachloropiridazina-trimetoprim (SCP-TMP); sulfamonometoxina-trimetoprim (SMM-TMP) y sulfametoxazol-trimetoprim (SMZ-TMP). Después de la dosificación se obtuvieron muestras de sangre de las venas auriculares a intervalos crecientes hasta las 12 horas. Se obtuvieron los sueros por coagulación y centrifugación y

Recibido el 6 de agosto de 1997 y aceptado el 13 de noviembre de 1997.

* Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

** Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

se congelaron a -4° C hasta su análisis. La cuantificación se realizó mediante un análisis bacteriológico por difusión en placa, utilizando suero de cerdo como vehículo y una cepa sensible de *Escherichia coli* como organismo problema, con un coeficiente de variación intraprueba de 8%. Se realizaron análisis de farmacocinética compartamental por computadora. Los resultados indican una mayor biodisponibilidad para la SCP-TMP, mayores valores en la concentración sérica máxima y mejores volúmenes de distribución. Aunque la vida media de eliminación fue ligeramente mayor para SMM-TMP y SMZ-TMP, la depuración no varió sustancialmente entre las tres mezclas. Se concluye que existen importantes diferencias en la farmacocinética de mezclas que pudieran aparentar ser bioequivalentes; y se comenta sobre el impacto de estas variaciones en la respuesta clínica.

Palabras clave: SULFONAMIDAS, TRIMETROPRIM, FARMACOCINÉTICA, BIODISPONIBILIDAD, CERDOS.

Introducción

En virtud del éxito terapéutico y comercial de las mezclas de sulfonamidas con trimetoprim, han proliferado en el mercado nacional diversas marcas de mezclas, utilizando como principio activo una sulfa diferente y trimetoprim en las mismas proporciones, a fin de reproducir la sinergia que se detectó inicialmente con sulfametoxazol-trimetoprim y que se usa en medicina humana. En humanos la vida media de sulfametoxazol y trimetoprim son de aproximadamente 10 horas,¹ con lo que su efecto en el organismo tiende a ser complementario y se mantiene la proporción requerida de una parte de trimetoprim por 16 de sulfonamida señalada en la literatura.² Sin embargo, como a menudo sucede, la farmacocinética de una sinergia no se puede extrapolar de manera simplista a la situación en animales, en particular en el cerdo, especie en la que la vida media del trimetoprim es de tan sólo una hora.¹ De tal suerte que diferentes sulfonamidas tendrán distintos tiempos en los que logran sinergia con el trimetoprim en el individuo, dependiendo de sus volúmenes de distribución y de la vida media de eliminación, ya que lograrán mantener la proporción mencionada en tejidos y suero durante distintos tiempos. Si éste es el caso, las variaciones en la biodisponibilidad y farmacocinética de las diferentes sulfonamidas repercutirá en variaciones en la eficacia terapéutica; es decir, no serán bioequivalentes.

En países en los que se regula más estrictamente la venta de farmacéuticos para la industria veterinaria, se exige la definición de la farmacocinética de cada símil de un producto determinado, de manera tal que se puedan establecer sus bioequivalencias. En otras palabras, las distintas mezclas de sulfonamida trimetoprim pueden ser equivalentes químicamente y equivalentes *in vitro*, pero su actividad diferirá clínicamente. En ensayos similares con sulfonamidas-trimetoprim en pollos se encontró una actividad bioequivalente distinta cuando se aplicaba a animales enfermos,³ por lo que es factible pensar que este tipo de comportamiento se detecte en el cerdo. Adicionalmente, otras razones para que un producto no sea bioequivalente pueden ser: una mayor proporción de

fármaco racémico (dextro o levo) de un producto con una actividad definida en dextro o levo, diferencias en el vehículo, que pueden conducir a distintos grados de solubilidad, dispersibilidad, cohesión al vehículo, resistencia a la presencia de aguas duras y diferencias notables en el control de calidad.

Los efectos comerciales de la existencia de símiles pueden tener un impacto importante dado que la mala reputación terapéutica de una marca, puede afectar a todos los genéricos que tengan esta combinación o combinaciones que aparentemente poseen actividades equivalentes.

En función de lo anterior se consideró como relevante llevar a cabo un estudio comparativo de la farmacocinética/biodisponibilidad de la mezcla de sulfaclopiridacina-trimetoprim (SCP-TMP) con respecto a sulfamonometoxina-trimetoprim (SMM-TMP) y sulfametoxazol-trimetoprim (SMX-TMP). Para ello se consideró importante realizar una comparación de la actividad antimicrobiana y no de concentración química *per se*. Esto se puede lograr mediante la determinación cuantitativa-cualitativa diseñada por Bennet *et al.*,⁴ quienes sugieren utilizar la actividad antimicrobiana contenida en el suero como la mejor forma de evaluar la utilidad de un antimicrobiano, sobre todo si se considera que la presencia de fluidos orgánicos (en este caso sangre-suero) modifica notablemente la capacidad antibacteriana de muchos compuestos.

Material y métodos

Se utilizaron en total 21 cerdos criollos de aproximadamente 20 kg de peso cada uno, divididos en 3 grupos de 7 cerdos. Se les aplicó a cada uno por vía endovenosa una dosis bolo de 100 mg/kg de SCP-TMP, SMX-TMP o SMM-TMP, diluidos en una proporción de 5:1 en agua:etanol (10:1). Inicialmente el TMP se diluyó en etanol y la SCP-Na en agua bidestilada. Después de su aplicación se tomaron muestras sanguíneas por punción de las venas auriculares a los siguientes tiempos: 10 min, 45 min, 1.5 h, 3 h, 6 h y 9 h. Se centrifugaron las muestras de sangre a 10,000 gravedades por 10 minutos. El suero se mantuvo en congelación a -4° C hasta su análisis. El método de determinación

usado fue el de difusión en placa, bajo los lineamientos sugeridos por Bennet *et al.*;⁴ para cada mezcla de sulfonamida trimetoprim se estandariza las curvas basales con el suero de cerdos y se utilizó una cepa sensible de *Escherichia coli* como microorganismo estándar. Se encontró una capacidad de detección límite de 0.1 µg/ml, con un coeficiente de variación inferior al 8%. Las variables farmacocinéticas se calcularon mediante análisis compartamental con un programa de computación llamado PKAnalyst utilizando las relaciones de concentración sérica vs tiempo.*

Las variables cinéticas para las otras dos combinaciones de sulfonamida-trimetoprim (SMM-TMP y SMX-TMP), se determinaron mediante el mismo procedimiento, utilizando 4 cerdos por sulfonamida, con la siguiente fórmula general de acuerdo con Rowland y Tozer⁵:

$$C_t = Ae^{-t}$$

Volumen de distribución aparente del compartimiento central

$$VdC = \frac{\text{Dose IV}}{CP_0}$$

Volumen de distribución área:

$$Vd_{area} = \text{Dose IV} / \text{AUC} \cdot \beta$$

Volumen de distribución en el estado estable:

$$Vd_{ss} = \text{Dose IV} \cdot \text{AUMC} / \text{AUC}^2$$

Depuración sistémica:

$$ClS = \text{Dose IV} / \text{AUC}$$

Concentración de SCP-TMP en suero al momento cero $C_0 = A + B$, donde A = concentración de SCP-TMP, SMM-TMP o SMZ-TMP, al momento cero obtenido por extrapolación al eje de las Y, utilizando el

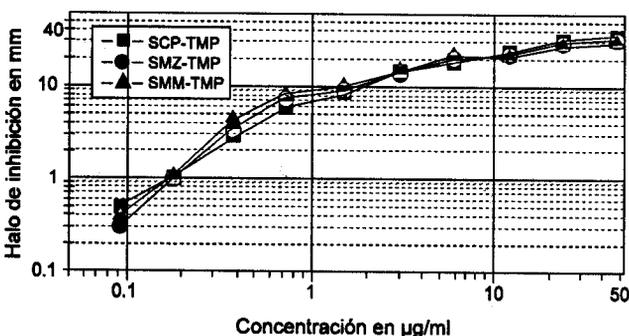


Figura 1. Relación de los halos de inhibición en mm vs. concentración sérica para sulfametoxazol-trimetoprim (SMZ-TMP), sulfaclopiridacina-trimetoprim (SCP-TMP) y sulfamonometoxina-trimetoprim (SMM-TMP), de acuerdo con la técnica de difusión en agar de Bennet *et al.*⁴

* Micro Math Scientific Software, Salt Lake City, Utah, USA.

método de residuales y B = concentración de la fase terminal.

$$K_{21} = A\beta + B / A + B$$

$$K_{10} = \alpha \cdot \beta / K_{21}$$

$$K_{12} = \alpha + \beta - K_{21} - K_{10}$$

Biodisponibilidad = AUC oral/AUC i.v.

Quince días después se aplicó una dosis bolo de los productos SCP-TMP, SMM-TMP y de SMX-TMP a igual número de cerdos por vía oral y a la misma dosis ya especificada, y nuevamente se determinaron las concentraciones séricas, mediante muestras sanguíneas tomadas a intervalos crecientes: 0.5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h. Se establecieron las variables farmacocinéticas orales de la forma ya descrita.

Resultados

En la Figura 1 se presenta la relación de halo de inhibición en mm vs concentración sérica para las tres mezclas de sulfonamida-trimetoprim. Cada punto representa la media de 5 determinaciones. En el Cuadro 1 se presenta la media y desviación estándar de las concentraciones séricas obtenidas al administrar las diferentes mezclas de sulfonamida-trimetoprim durante este ensayo, tanto por vía intravenosa como por vía oral. Estas concentraciones se grafican en las Figuras 2, 3 y 4. En el Cuadro 2 se presentan los valores farmacocinéticos obtenidos para las tres mezclas de sulfonamida-trimetoprim de este ensayo, incluyendo su biodisponibilidad.

La comparación de las concentraciones séricas obtenidas mediante pruebas *t* de Dunnet después de la aplicación intravenosa indica que no existen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$), mientras que

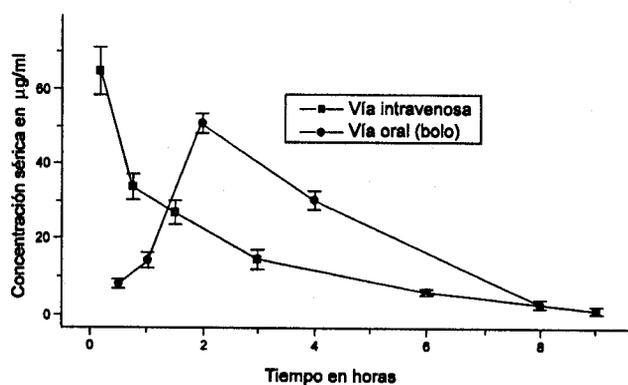


Figura 2. Concentraciones séricas de sulfaclopiridacina-trimetoprim (5:1) en cerdos después de su administración intravenosa y oral (bolo) a dosis de 100 mg/kg.

Cuadro 1
CONCENTRACIONES SÉRICAS DE SULFACLOROPIRIDACINA-TRIMETROPRIM SULFAMETOXAZOL-TRIMETROPRIM Y
SULFAMONOMETOXINA-TRIMETROPRIM EN CERDOS DESPUÉS DE SU ADMINISTRACIÓN POR VÍA INTRAVENOSA U
ORAL (BOLO) A RAZÓN DE 100 MG/KG.

Concentraciones séricas en µg/ml

Cerdo	Vía intravenosa						Vía oral					
	<i>Sulfaclopiridacina-Trimetroprim</i>											
Tiempos en horas	0.16	0.75	1.5	3	6	9	0.5	1	2	4	8	
1	63	35	29	10	5	1	8	14	52	33	2	
2	65.5	33.2	30	18	6.5	2.5	9	16	52	30	3	
3	60	36	31	16.5	5	0.5	7	14	50	31	1.5	
4	67	40	25	14.5	7	1	8	15	53	28	4	
5	61	33	28	13	6.5	0.5	8	11	51	26	2	
6	68	28	22	17	5.5	0.5	10	18	49	30	1.8	
7	70	32	24	13	5	2	6	13	54	34	3.4	
X ± DE	64.9± 6.4	33.9 ±3.4	27± 3.1	14.6 ±2.6	5.8± 0.8	1.1± 0.7	8± 1.2	14.4± 2.1	51.6± 1.6	30.3± 2.5	2.5± 0.9	
<i>Sulfametoxazol-Trimetroprim</i>												
1	60	30	20	16	12	7	6	9	38	26	3	
2	55	32	25	15	9	5	5.5	8.5	40	27.3	1.7	
3	50	37	23	15	11	5	7	7.8	36	23	2.2	
4	52	36	24	12	8	4	4	9.2	35.4	26.5	2.6	
X ± DE	54.3 ±3.8	33.8 ±2.9	23 ±1.9	14.5 ±1.5	10 ±1.6	5.3 ±1.1	5.6±1 .1	8.6±0 .5	37.4± 1.8	25.7 1.6	2.4±0 .5	
<i>Sulfamonometoxina-Trimetroprim</i>												
1	60	45	36	22	18	5	7	8	40	23	4	
2	55	39	30	16	16	8	6.3	7.1	36.5	22	1.6	
3	59	38	32	18	13	4	6.0	9.2	38.4	18	2.0	
4	60	43	32	19	10	5	7.1	6.8	39.1	16	2.5	
X ± DE	58.5 ±2.1	41.3 ±2.9	33.8 ±1.9	18.8 ±2.2	14.3 ±3	5.5 ±1.5	6.6±0 .5	7.8±0 .9	38.5± 1.3	19.8± 2.9	2.5±0 .9	

sí se detectó una diferencia significativa en las concentraciones séricas obtenidas, después de la administración oral ($P < 0.05$) con la misma prueba, lo que indica una mayor concentración sérica de SCP-TMP.

Discusión

A pesar de las tres décadas que han transcurrido desde que se ideó el método cuantitativo/cualitativo de difusión en placa para cuantificar la actividad antibacteriana de sustancias con esta propiedad, el modelo diseñado por

Bennet *et al.*⁴ es, a la fecha, uno de los más utilizados. Permite identificar con mayor acercamiento a la realidad la actividad antibacteriana de una sustancia en el medio y con la participación de los componentes diversos del organismo, incluyendo las proteínas séricas, los cambios en el pH y la participación de metabolitos.⁶ Así se puede inferir que el método elegido permite cuantificar la actividad de las mezclas de sulfonamida con trimetroprim en función del tiempo, incorporando la presencia o ausencia de sinergia de la sulfonamida con el trimetroprim, dadas las diferencias que pudiera haber en la farmacocinética de estos fármacos.

Cuadro 2
VARIABLES FARMACOCINÉTICAS DE TRES SULFONAMIDAS CON TRIMETROPRIM POSTERIOR A LA APLICACIÓN INTRAVENOSA U ORAL (BOLO) DE 100 MG/KG EN CERDOS.

<i>Sulfacoloropiridacina-Trimetroprim</i>				
<i>Variable</i>	<i>Via intravenosa</i>		<i>Via oral</i>	
	<i>X</i>	<i>± DE</i>	<i>X</i>	<i>± DE</i>
AUC (µg h/ml)	135	24	107	15
AUMC (µg h/ml)	176	32	139	23
V _{dc} (L/kg)	1.5	0.3	0.7	0.03
^{va} Área (L/kg)	1.2	0.2	1.0	0.05
V _{d_{ss}} (L/kg)	0.97	0.05	0.75	0.10
β (h-1)	0.60	0.04	0.59	0.05
T _{1/2} β (h)	1.14	0.2	1.22	0.12
Cl _s (ml/min//kg)	0.740	0.2	0.43	0.10
C _{P₀} (µg/ml)	66.23	8	53.0	12
T _{máx} (h)			2.45	0.32
Biodisponibilidad (%) 78.9 a 79.25				
<i>Sulfametoxazol-Trimetroprim</i>				
<i>Variable</i>	<i>Via intravenosa</i>		<i>Via oral</i>	
	<i>X</i>	<i>± DE</i>	<i>X</i>	<i>± DE</i>
AUC (µg h/ml)	144	15	85	12
AUMC (µg h/ml)	262	23	154	21
V _{dc} (L/kg)	1.65	0.2	1.50	0.3
^{va} Área (L/kg)	0.900	0.10	0.70	0.09
V _{d_{ss}} (L/kg)	1.26	0.8	1.20	0.7
β (h-1)	0.42	0.05	0.36	0.05
T _{1/2} β (h)	1.64	0.21	1.80	0.18
Cl _s (ml/min//kg)	0.70	0.20	0.62	0.18
C _{P₀} (µg/ml)	52.21	6.5	39	5.7
T _{máx}			3.16	0.5
Biodisponibilidad (%) 58.7 a 59.0				
<i>Sulfamonometoxina-Trimetroprim</i>				
<i>Variable</i>	<i>Via intravenosa</i>		<i>Via oral</i>	
	<i>X</i>	<i>± DE</i>	<i>X</i>	<i>± DE</i>
AUC (µg h/ml)	185	14	118	13
AUMC (µg h/ml)	446	36	286	24
V _{dc} (L/kg)	1.73	0.23	1.60	0.18
^{va} Área (L/kg)	0.72	0.12	0.69	0.30
V _{d_{ss}} (L/kg)	1.30	0.12	1.05	0.23
β (h-1)	0.31	0.02	0.28	0.05
T _{1/2} β (h)	2.21	0.10	2.65	0.34
Cl _s (ml/min//kg)	0.54	0.06	0.41	0.09
C _{P₀} (µg/ml)	56.8	7.5	40	5.5
T _{máx}			3.35	0.75
Biodisponibilidad (%) 63.7 a 64.1				

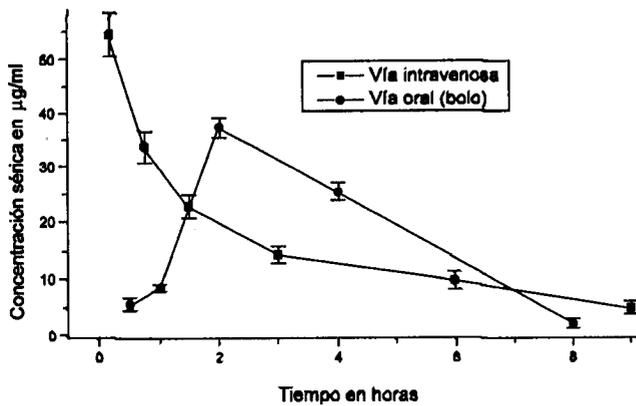


Figura 3. Concentraciones séricas de sulfametoxazol-trimetoprim (5:1) después de su administración por vía intravenosa y oral (bolo) a dosis de 100 mg/kg.

Son muy escasos los trabajos que detallan la farmacocinética y biodisponibilidad de las sulfonamidas en cerdos, en particular las utilizadas en este trabajo. Una revisión por computadora en los principales bancos de información (CAD, AGRIS, etc.) reveló una sorprendente ausencia de investigaciones al respecto, como se refleja en los datos compilados por autores líderes en la materia.⁷ Sin embargo, se reconoce que son opciones de enorme valor terapéutico, que por añadidura tienen una relación costo/beneficio muy favorable. Con respecto a los datos farmacocinéticos obtenidos, se puede destacar que los volúmenes de distribución fueron congruentes con los escasos informes en la literatura para otras sulfonamidas,^{1,7} y que la SCP-TMP mostró la mejor distribución con un V_d área = 1.2 l/kg, mientras que las otras dos mezclas tuvieron V_d s área inferiores a la unidad, característica típica de ácidos débiles como las sulfonamidas.^{1,2,8} La depuración de las tres sulfonamidas no varió sustancialmente; asimismo, la vida media fue superior en el caso de la SMM-TMP y el SMZ-TMP, aunque las diferencias fueron poco relevantes. Sin embargo, las concentraciones séricas máximas fueron superiores para la SCP-TMP, un rasgo cinético de gran importancia para la quimioterapia de enfermedades bacterianas, ya que se reduce el periodo de latencia entre inicio de la terapia e inicio de la destrucción bacteriana, por los fármacos, en particular en el caso de las sulfonamidas.^{1,8} Un punto que cabe destacar de este estudio comparativo es la mayor biodisponibilidad de la SCP-TMP con respecto a las otras dos mezclas de sulfonamida-trimetoprim utilizadas en este ensayo. Esto es, existe una ventaja clínica de la sulfaclopiridacina-trimetoprim sobre las otras dos combinaciones evaluadas. No obstante, en este ensayo se utilizaron dosis bolo y sería necesario pon-

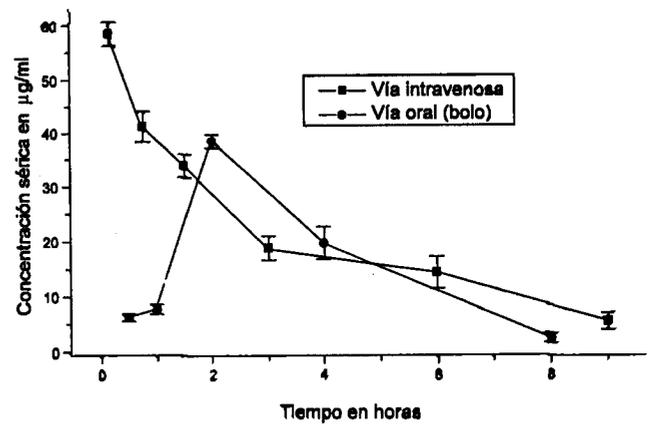


Figura 4. Concentraciones séricas de sulfamonometoxina-trimetoprim (5:1) en cerdos después de su administración por vía intravenosa y oral (bolo) a dosis de 100 mg/kg.

derar adicionalmente la influencia de la degustación de diversos preparados farmacéuticos en la biodisponibilidad de los fármacos evaluados, ya que se sabe que el cerdo tiene muy desarrollado el sentido del gusto y que al enfermarse ese sentido puede agudizarse; por ejemplo, durante un brote de neumonía por *Actinobacillus pleuropneumoniae*, cuando se reduce drásticamente el consumo de agua y alimento.

Riviere *et al.*⁷ citan en su compilación sobre tiempos de retiro de rastro, 4 días para la sulfaclopiridacina en cerdos y no hacen mención de la sulfamonometoxina ni del sulfametoxazol. Sumano y Ocampo⁹ consideran que si la vida media de la sulfaclopiridacina es multiplicada por 20, se tendrá un tiempo de retiro de rastro de solamente 22.8 horas; de 36 horas para el sulfametoxazol y de 53 horas para la sulfamonometoxina. En contraste, Prescott y Baggot¹ especulan que es necesario añadir a este tiempo, una fase adicional debida al reciclaje de los metabolitos urinarios, en virtud de que los cerdos vuelven a ingerirlos. De tal suerte que es poco predecible el tiempo de retiro basándose únicamente en la vida media del medicamento, por lo que es necesario contemplar otros aspectos como la calidad del manejo de excretas en una granja determinada. Para ello es necesario realizar un estudio para determinar la persistencia de residuos mediante técnicas de cromatografía líquida de alta resolución, pruebas basadas en ELISA, o ambas. En otras palabras, muchas sulfonamidas presentan dos o tres vidas medias, dependiendo de la fase en la que se encuentre el fármaco y en la cual se hagan los cálculos; por ejemplo, la de distribución (fase α), la de posdistribución (fase β) o la de eliminación de residuos (fase γ).^{2,8,10} Como generalmente la fase γ es mucho más lenta, el periodo de retiro puede extenderse considerablemente.

Referencias

1. Prescott JF, Baggot JD. Antimicrobial therapy in veterinary medicine. Ames (IO): Iowa State University Press, 1993.
2. Sumano LH, Ocampo CL. Farmacología veterinaria. 2a ed. México (DF): McGraw-Hill/Interamericana, 1997.
3. Sumano LH, Fuentes HV, Ocampo CL. Pharmacokinetic aspects of a sulphachloropyridazine trimethoprim preparation in normal and diseased fowl. *Br Poultry Sci* 1990; 31:627-634.
4. Bennet JB, Brodie JL, Benner EJ, Kirby WM. Simplified accurate method for antibiotic assay. *Clinical specimens. Am Soc Microbiol* 1966;14:170-177.
5. Rowland M, Tozer TN. Variability in clinical pharmacokinetics: concepts and applications. 2nd ed. Philadelphia (PA): Lea & Febiger, 1989.
6. Fang W, Vikerpuur M. Potency of antibacterial drugs in milk as analysed by β -glucuronidase-based fluorometry. *J Vet Pharmacol Ther* 1995;18:422-428.
7. Riviere E, Craigmill AL, Sundlof SF. Handbook of comparative pharmacokinetics and residues of veterinary antimicrobials. Boca Ratón (FL): CRC Press, 1991.
8. Booth NH, McDonald LE. Veterinary pharmacology and therapeutics. 6th ed. Ames (IO): Iowa State University Press, 1988.
9. Sumano LH, Ocampo CL. Bases farmacológicas de la vigilancia de residuos de fármacos en productos de origen animal. *Vet Méx* 1995;26:175-182.
10. Mercer DW. Calculation of dosage regimens of antimicrobial drugs for surgical prophylaxis. *J Am Vet Med Assoc* 1984;185:1083-1085.