

## DISEÑO DE UN ESQUEMA TERAPÉUTICO DE MARBOFLOXACINA PARA EL TRATAMIENTO DE COLIBACILOSIS EN CABRAS ADULTAS

Patricelli Paula<sup>A</sup>, Aguirre Soledad<sup>A</sup>

<sup>A</sup>Laboratorio de Farmacología y Toxicología - Facultad de Ciencias Veterinarias - UNL

Área: Ciencias de la Salud

Sub-Área: Veterinaria

Grupo: X

**Palabras clave:** marbofloxacina, posología, cabras

### INTRODUCCIÓN

En nuestro país, dentro de las especies de animales de producción, la cabra es considerada una especie menor, constituyendo esta, la base de un sistema de producción de subsistencia familiar (De la Rosa Carbajal, 2013). Esta actividad se realiza en zonas geográficas agrestes y con escasos o nulos recursos forrajeros, con escasas o nulas condiciones sanitarias. Ante la aparición de enfermedades, los tratamientos son realizados de forma empírica por los mismos propietarios sin asesoramiento veterinario. Dado el escaso impacto que esta especie representa para las ventas de medicamentos veterinarios, es que la mayoría de estos carecen de estudios de eficacia y seguridad para esta especie. Como consecuencia, no hay dosis recomendadas para esta y la misma se halla “huérfana de terapéutica”, de manera que cuando se requiere tratar a una cabra, normalmente se hace uso de los medicamentos utilizando dosis recomendadas para otras especies de rumiantes como bovinos u ovinos. La colibacilosis una enfermedad de etiología bacteriana cuyo agente etiológico es la *Escherichia coli* y que provoca grandes pérdidas en los sistemas productivos caprinos por atraso en el crecimiento y por mortandad. La marbofloxacina (MFX) es un antibiótico del grupo de las fluoroquinolonas muy efectivo sobre esta bacteria. En Europa, la MFX se usa en cabras a la dosis extrapolada del bovino que es de 2 mg/kg cada 24 horas (Shidu et al., 2010). Actualmente hay un laboratorio regional que ha desarrollado una formulación inyectable para bovinos y creemos que esta podría constituir una alternativa para el tratamiento la colibacilosis caprina.

### OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de MFX sobre una cepa de *Escherichia coli* con ensayos de curvas de muerte bacteriana mediante modelización matemática, diseñar un esquema posológico que se adapte a la fisiología y la farmacocinética de la MFX en la especie caprina y que puede garantizar una mejor eficacia sobre la colibacilosis.

### METODOLOGÍA

Se utilizó un estándar de MFX de pureza conocida, y dos cepas de *Escherichia coli*, una cepa autóctona (09-684) y una cepa testigo (ATCC 25922). Para ambas cepas se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) por el método de macrodilución en tubo dentro del intervalo de concentraciones comprendidas entre 0,004 y 1 µg/mL. A

Proyecto: Integración farmacocinética/farmacodinámica *ex vivo* de marbofloxacina sobre *Escherichia coli* tras su administración por vía subcutánea en cabras de 1, 3 y 6 semanas de edad

Director del proyecto: Dr. Enrique Formentini

Director del becario/tesista: Dr. Enrique Formentini

partir del valor estimado de CIM se realizó con la cepa 09-684, un ensayo *in vitro* de cinética de muerte bacteriana a concentraciones fijas de MFX equivalentes a 0 (crecimiento testigo), 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16 y 32 x CIM, según metodología reportada por García Rodríguez y col., (2001). De los inóculos expuestos a cada concentración de MFX se extrajeron alícuotas a los 0, 1, 2, 3,5, 5, 10 y 24 h que se extendieron en placas de agar, las que se incubaron a 35°C durante 24 h, para luego proceder al conteo de colonias. El conteo de bacterias viables se expresó como unidades formadoras de colonia/mL (UFC/mL). Los valores log transformados de UFC/mL obtenidos para la curva de crecimiento testigo y para cada concentración de MFX en cada tiempo de muestreo fueron ajustados mediante regresión no lineal ponderada de mínimos cuadrados con el modelo de Gompertz con el que para cada concentración de MFX se estimaron los siguientes parámetros:  $N_0$  conteo inicial de bacterias;  $\lambda$ , tiempo de latencia;  $k_c$  y  $k_b$ , constantes de crecimiento y muerte y  $N_{ss}$ , máximo conteo bacteriano estimado. Las eficacias *in vivo* de diferentes posologías de MFX en cabras fueron simuladas con el programa informático ADAPT II (BMSR, University of Southern California USA, utilizando el modelo PK-PD que se describe en la ecuación 1. Las dosis y los esquemas de administración se describen en la tabla 1.

### Ecuación 1.

$$\log UFC/mL = N_0 + (A - B)$$

$$A = N_{ss} \cdot e \left\{ -e \left[ \left( \frac{k_c \cdot e}{N_{ss}} \right) \cdot (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$$

$$B = N_{ss} \cdot e \left\{ -e \left[ \left( \frac{k_b(tn) \cdot e}{N_{ss}} \right) \cdot (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$$

$$k_b(tn) = k_b(t0) + \frac{k_b(max) \cdot C_p^n}{C_p(50) + C_p^n}$$

$$C_p = \frac{k_a \cdot F \cdot D}{V_d(k_a - k_{el})} \cdot (e^{-k_{el} \cdot t} - e^{k_a \cdot t})$$

Donde  $N_0$  es el log del conteo bacteriano inicial (UFC/mL);  $N_{ss}$  es el máximo conteo bacteriano estimado;  $\lambda$  es el tiempo de latencia;  $e$  es la base de los logaritmos naturales;  $t$  es el tiempo;  $k_c$  es la constante de crecimiento bacteriano y  $k_b(tn)$  es la constante de muerte bacteriana a un tiempo determinado, cuyo valor está determinado por la ecuación de Hill donde  $k_b(t0)$  es el valor de de la constante de muerte a tiempo cero y  $k_b(max)$  es el máximo valor de  $k_b$ ;  $C_p(50)$  es la concentración de MFX que logra el 50% del  $k_b(max)$ ;  $n$  es el coeficiente de Hill y  $C_p$  es la concentración plasmática estimada de MFX cuyo valor se estima con el modelo de un compartimiento según la ecuación de Bateman donde los parámetros farmacocinéticos de MFX en cabras fueron reportados por Waxman et al., (2004) y Sidhu et al., (2010), siendo  $k_a$  es la constante de absorción (7,63 h<sup>-1</sup>);  $k_{el}$  es la constante de eliminación (-0,241 h<sup>-1</sup>);  $V_d$  es el volumen de distribución (1500 mL/kg);  $F$  es la fracción biodisponible cuyo valor fue fijado en 1 y  $D$ , son las dosis que se presentan en la tabla 1

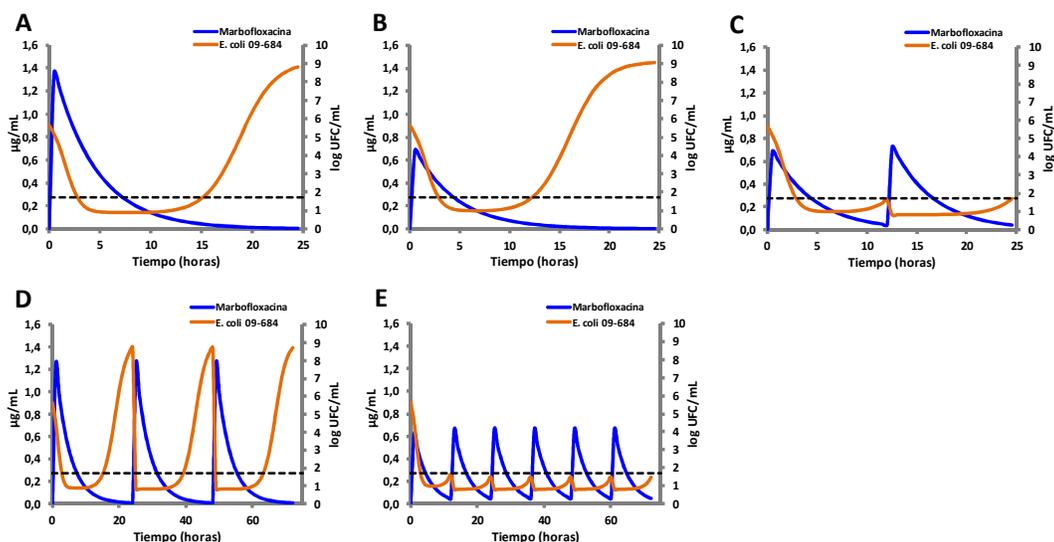
**Tabla 1.** Dosis y esquemas de administración de marbofloxacin simulados.

Dosis	Frecuencia de administración	Número de dosis	Duración del tratamiento
2 mg/kg	c/24 h	1	1 día
2 mg/kg	c/24 h	3	3 días
1 mg/kg	c/24 h	1	1 días
1 mg/kg	c/12 h	1	1 día
1 mg/kg	c/12 h	6	3 días

Para evaluar la eficacia de MFX se tomó como punto de corte una reducción de 4 log respecto del log del conteo bacteriano inicial, que se corresponde con una eliminación del 99,99% del conteo bacteriano inicial y que se correlaciona con una actividad antibacteriana que garantiza la erradicación bacteriana. El índice PK-PD utilizado para establecer la relación entre dosis y eficacia fue el de área bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo observada desde tiempo 0 a 24 h (ABC<sub>0-24h</sub>)/CIM. Los valores de este índice de eficacia fueron calculados para cada esquema de dosificación.

## RESULTADOS

Los valores estimados de CIM de MFX para las cepas autóctona y testigo de *Escherichia coli* fueron de 0,0312  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Los resultados de eficacia de diferentes esquemas de dosificación de MFX en cabras adultas sobre una cepa autóctona de *Escherichia coli* 09-684, se presentan en la figura 1.



**Figura 1.** Evolución del conteo de bacterias viables de *E. coli* 09-684 en función de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacin en cabras adultas tras la administración de los siguientes esquemas posológicos: **A)** 2 mg/kg, **B)** 1 mg/kg, **C)** 1 mg/kg c/12 h, **D)** 2 mg/kg c/24 h x 3 días y **E)** 1 mg/kg c/12 h x 3 días. La línea de puntos horizontal indica una reducción de 4 log respecto del log del conteo bacteriano inicial, que corresponde a una reducción del conteo bacteriano del 99,99% y se correlaciona con la erradicación bacteriana y la cura clínica. Los datos fueron simulados con el programa informático ADAPT II (BMSR, University of Southern California USA).

Los valores de  $ABC_{0-24}/CIM$  para cada esquema de dosificación de MFX se presentan en la tabla 2.

**Tabla 2.** Valores estimados de  $ABC_{0-24h}/CIM$  de marbofloxacin.

Dosis	Frecuencia	Número	ABC ( $\mu\text{g}/\text{mL}\cdot\text{h}$ )	CIM ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	$ABC_{0-24h}/CIM$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ )
2 mg/kg	c/24 h	1 dosis	5,33	0,0312	177,32
1 mg/kg	c/24 h	1 dosis	2,77	0,0312	88,66
1 mg/kg	c/12 h	2 dosis	5,33	0,0312	177,32

## CONCLUSIONES

Las integraciones PK-PD que simularon la relación entre la eficacia de MFX sobre una cepa autóctona de *Escherichia coli* y diferentes esquemas de dosificación muestran que el esquema utilizado en bovinos (2 mg/kg c/24 h x 3 días), no garantizaría una

buena reducción de la carga bacteriana al final del intervalo entre administraciones. Se asume que un valor de  $ABC_{0-24h}/CIM \geq a 125 \mu\text{g.h/mL}$ , es suficiente para garantizar la eficacia en un antibiótico del grupo de las fluorquinolonas. Sin embargo, este esquema de dosificación, aunque presentó un valor de  $ABC_{0-24h}/CIM$  de  $177,32 \mu\text{g.h/mL}$ , no fue suficiente para evitar el reinicio del crecimiento bacteriano. Esto puede explicarse porque, aunque MFX es un antibiótico con actividad concentración dependiente, esta no puede eliminar a la sub población de bacterias persistentes. Estas sobreviven a la exposición de las elevadas concentraciones de MBX observadas durante la primera hora pos administración y constituyen un reservorio biológico a partir del cual una vez que las concentraciones de MFX decrecen pueden reiniciar su crecimiento.

Este resultado nos permite inferir que un valor del índice PK-PD de  $ABC_{0-24h}/CIM \geq a 125 \mu\text{g.h/mL}$  no puede predecir una terapéutica exitosa si la farmacocinética del antibiótico no permite garantizar concentraciones sostenidas de MFX durante todo el intervalo entre dosis.

Por el contrario, cuando la misma dosis se reparte en dos administraciones con intervalos de 12 h, se logra la misma relación  $ABC_{0-24h}/CIM$  de  $177,32 \mu\text{g.h/mL}$ , pero en este caso se garantiza la reducción de la carga bacteriana por debajo de los niveles compatibles con la erradicación bacteriana. Hay algunos puntos que pueden discutirse, como por ejemplo, que en el caso del primer esquema de administración, faltaría incorporar la respuesta inmune del individuo, que completaría la eliminación bacteriana del organismo. Otro aspecto que puede discutirse es el de la incomodidad de dos administraciones diarias en lugar de una.

Con respecto al primer punto, podemos argumentar que si un individuo ha desarrollado un cuadro clínico de infección bacteriana, sin duda es que sus mecanismos de defensa han sido sobrepasados. También hay que considerar que se trata de animales enfermos en sistemas de explotación con pobres esquemas sanitarios y recursos forrajeros insuficientes, los cuales son factores que pueden dificultar y retrasar la recuperación de los individuos. Con respecto al segundo punto, es cierto que un esquema de dos dosis diarias es más incómodo para el productor que una sola dosis diaria, pero hay que tener en cuenta que se trata aquí de animales enfermos en sistemas de explotación de tipo familiar, con pocos animales, que generalmente se encuentran en las proximidades de la vivienda de la familia, por lo que un esquema de dos dosis diaria no representaría una dificultad significativa para el grupo familiar.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

**Waxman S., San Andres M.D., Gonzalez F., San Andres M.I., De Lucas J.J., Rodriguez C.** 2004. Age-related changes in the pharmacokinetics of marbofloxacin after intravenous administration in goats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27, 31–35.

**Sidhu P.K., Landoni M.F., Aliabadi F.S., Lees P.** 2010. Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of marbofloxacin administered alone and in combination with tolfenamic acid in goats. *The Veterinary Journal*, 184, 219-229.

**García Rodríguez J.A., Cantón R., García Sánchez J.E., Gómez-Lus M.L., Martínez Martínez L., Rodríguez-Avila C., Vila J.** 2001. Métodos Especiales para el Estudio de la Sensibilidad a los Antimicrobianos. En Juan J. Picazo Editor: *Procedimientos en Microbiología Clínica*; SEIMC Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Primera Edición. España.

**De La Rosa Carbajal S.** 2013. Sistemas de producción caprina de carne en el nordeste argentino. *Memorias Primer congreso Argentino de Producción Caprina*. La rioja, Argentina agosto 2013, 4-16.