

PROPUESTA DE POSOLOGÍA DE MARBOFLOXACINA EN CABRAS PARA EVITAR LA EMERGENCIA DE CEPAS RESISTENTES DE *Escherichia coli*

Patricelli Paula

Facultad de Ciencias Veterinarias UNL
Director: Formentini Enrique

Área: Ciencias de la Salud

INTRODUCCIÓN

Al cumplirse 90 años del descubrimiento de la penicilina (1928), aún no se ha logrado la victoria sobre las enfermedades infecciosas bacterianas. Más aún, el avance del fenómeno de resistencia, ha hecho que muchos antibióticos hoy no sean tan eficaces como lo fueron en sus orígenes. En ese escenario, aún se sigue discutiendo acerca de cómo debería ser el esquema posológico antibiótico óptimo que garantice la remisión clínica y la cura bacteriológica. Muchas enfermedades se han vuelto refractarias a la terapéutica antibiótica no solo a causa de la emergencia de cepas resistentes sino también debido a la presencia de bacterias que sin haber desarrollado resistencia, ingresan a un estado de “latencia metabólica” que les permite sobrevivir aún en presencia de elevadas concentraciones de antibióticos denominadas “*bacterias persistentes*”, de las que aún poco se habla en los ambientes académicos. La marbofloxacina (MFX) es una fluoroquinolona de cuarta generación que ha sido desarrollada para su empleo en medicina veterinaria y que presenta actividad sobre cepas sensibles de *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Mycoplasma bovis* y *Escherichia coli*. La MFX presenta una eficacia concentración-dependiente, aunque algunos autores aseguran que su eficacia también depende del tiempo de exposición, por lo tanto su acción sería de tipo mixta. Se acepta que un régimen posológico que garantiza la cura clínica es la dosis que logra una relación área bajo la curva/concentración inhibitoria mínima (ABC/CIM) ≥ 125 . Sin embargo actualmente se considera que una posología óptima también debe prevenir la emergencia de cepas resistentes, y es allí cuando entra en vigencia la concentración preventiva de mutantes (CPM) como un nuevo parámetro de eficacia antibiótica. Aunque aún no está establecido cual es el índice farmacocinético-farmacodinámico (PK-PD) que evita la emergencia de cepas resistentes, algunos autores proponen una dosis que garantice una relación ABC/CPM ≥ 20 . Sin embargo también hay que garantizar la eliminación de las cepas de bacterias persistentes y se acepta que un prolongado tiempo de exposición al antibiótico es la única alternativa para eliminar a las mismas. Aunque el empleo de MFX ha sido autorizado en las especies bovina y porcina, su empleo no está indicado en muchas especies productivas menores como la ovina y la caprina.

Título del proyecto: Integración farmacocinética-farmacodinámica *ex vivo* de marbofloxacina sobre *Escherichia coli* tras su administración subcutánea en cabras de 1, 3 y 6 semanas de edad.

Instrumento: CAI+D

Año convocatoria: 2016

Organismo financiador: Universidad Nacional del Litoral

Director: Formentini Enrique Antonio

El empleo de MFX como de otros antibióticos en estas especies es “extra rótulo” y se realiza extrapolando la posología indicada en bovinos (2 mg/kg cada 24 h durante 3 días consecutivos), sin considerar que son especies con fisiologías diferentes y que esto puede modificar la eficacia de los mismos. La MFX estaría indicada para tratar en cabras las infecciones causadas por *Escherichia coli*, en donde produce cuadros de gastroenteritis que pueden llegar a ser mortales y en caso de sobrevida del animal, este queda desmejorado atrasándose así su estado productivo (carne- leche).

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo fue el de evaluar *in vitro* y *ex vivo* la actividad de MFX sobre una cepa de *Escherichia coli* y a partir de la simulación PK-PD desarrollar un esquema posológico para el tratamiento de infecciones producidas por esta bacteria en cabras, considerando no solo la cura clínica sino también la prevención de emergencia de cepas resistentes y la eliminación de bacterias persistentes.

METODOLOGÍA

Se utilizó un estándar de MFX de pureza conocida y una cepa de *Escherichia coli* (ATCC 25922). La concentración inhibitoria mínima (CIM) se estimó por el método de macrodilución en tubo (CLSI, 2008) en medio de cultivo estándar (MHB) y en presencia de suero de cabra en proporción 50:50 (MHB-SC). La CPM se determinó mediante la técnica de dilución de antibiótico en placa según técnica descrita por Blondeau (2009). Para el análisis PK-PD se utilizaron parámetros farmacocinéticos de MFX reportados en cabras por otros autores: biodisponibilidad (F) = 1; volumen de distribución (V_d) = 1500 mL/kg; constante de absorción (k_a) = 5,5 h⁻¹; constante de eliminación (k_{el}) = 0,2178 h⁻¹ y aclaramiento corporal (CL) = 326,7 mL/kg/h. Los índices de eficacia utilizados para predecir la remisión clínica y prevenir la emergencia de resistencia fueron ABC/CIM ≥ 125 y ABC/CPM ≥ 20 respectivamente. Se estimaron los valores de estos índices que se originarían a partir de una dosis de MFX extrapolada de bovinos (2 mg/kg) y se estimó la dosis que logra igualar o superar los valores de estos. Asumiendo una farmacocinética lineal, la dosis de MFX capaz de generar una relación ABC/CIM ≥ 125 y ABC/CPM ≥ 20 se estimó según las ecuaciones 1 y 2 respectivamente.

$$\text{Dosis} = (\text{CL} \times \text{CIM} \times 125)/F \quad (1)$$

$$\text{Dosis} = (\text{CL} \times \text{CPM} \times 20)/F \quad (2)$$

Se simularon las siguientes curvas de concentración plasmática de MFX durante un período de 24 h: (i) con una dosis única de 2 mg/kg, (ii) con una dosis estimada única y (iii) con la mitad de la dosis estimada administrada cada 12 h (una dosis total diaria). Las simulaciones se realizaron el programa informático ADAPT II (BMSR, University of Southern California USA, utilizando el modelo monocompartimental de Bateman. A partir de los valores estimados de CIM, CPM, parámetros farmacocinéticos, concentración plasmática máxima (C_{max}) y curvas de concentración plasmática simuladas, se estimaron los siguientes indicadores de eficacia: ABC/CIM, ABC/CPM, C_{max} /CIM, C_{max} /CPM, tiempo en el que las concentraciones plasmáticas se hallan por encima de la CIM y de la CPM respectivamente ($T > \text{CIM}$ y $T > \text{CPM}$).

RESULTADOS/CONCLUSIONES

El valor estimado de la CIM en MHB fue de 0,0312 $\mu\text{g/mL}$ y de 0,0078 $\mu\text{g/mL}$ en MHB-SC. El valor estimado de la CPM fue de 0,1 $\mu\text{g/mL}$. La dosis estimada que logra una relación $\text{ABC/CIM} \geq 125$ y $\text{ABC/CPM} \geq 20$ fue de 3,268 mg/kg . A los fines de estimar dosis que garanticen eficacia y facilidad de administración se simularon los perfiles farmacocinéticos utilizando una dosis de 3,5 mg/kg . Para el cálculo de los índices de eficacia se utilizó el valor de la CIM estimado en MHB (0,0312, $\mu\text{g/mL}$), dado que representa la eficacia de MFX en un individuo inmuno-comprometido. Asimismo, el valor de la CPM de 0,1 $\mu\text{g/mL}$ fue reemplazado por el de 0,5 $\mu\text{g/mL}$ que corresponde a la CPM_{90} de MFX sobre *Escherichia coli* reportada por Wetzstein (2005). Los perfiles simulados de concentración plasmática en función del tiempo de MFX obtenidos con los diferentes esquemas posológicos se presentan en la figura 1.

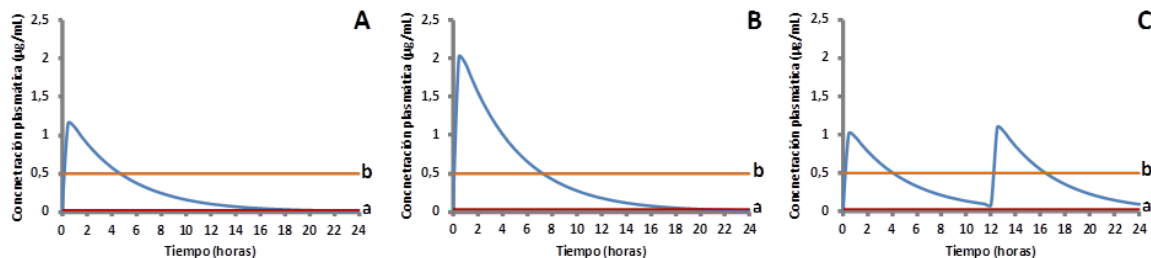


Figura 1: Perfiles simulados de concentración plasmática de MFX en función del tiempo en cabras durante 24 h tras la administración de: (A) una dosis única extrapolada del bovino (2 mg/kg), (B) una dosis estimada única (3,5 mg/kg) y (C) la mitad de la dosis estimada (1,75 mg/kg) administrada dos veces en un día con un intervalo de 12 h. las líneas de puntos horizontales indican (a) la concentración inhibitoria mínima (CIM) y (b) la concentración preventiva de mutantes (CPM).

Los valores de los índices de eficacia de MFX sobre *Escherichia coli* obtenidos a partir de las simulaciones realizadas se presentan en la tabla 1.

Tabla 1: Valores de los índices de eficacia de MFX sobre *Escherichia coli* calculados a partir de los perfiles de concentración plasmática simulados de MFX en cabras durante un período de 24 h.

Dosis e índices de eficacia	Dosis extrapolada	Dosis Estimada	
	Una dosis c/24 h	Una dosis c/24 h	1/2 dosis cada 12 h
Dosis (mg/kg)	2	3,5	1,75
$\text{ABC}_{0-24\text{h}}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	6,12	10,71*	10,71*
CIM ($\mu\text{g/mL}$)	0,0312	0,0312	0,0312
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	1,156	2,024	1,012
$\text{C}_{\text{max}}/\text{CIM}$	37,06	64,86	32,43
$\text{ABC}_{0-24\text{h}}/\text{CIM}$	196,2	343,4*	343,4*
CPM ($\mu\text{g/mL}$)	0,5	0,5	0,5
$\text{ABC}_{0-24\text{h}}/\text{CPM}$	12,2	21,4*	21,4*
$\text{T} > \text{CIM}$ (h)	17,2	19	24
$\text{T} > \text{CPM}$ (h)	4,4	11,8	16

(*) Los valores coinciden porque se considera el ABC durante un período de 24 h, y tanto si la dosis se administra en forma única o la mitad administrada en un día con intervalos de 12 h, los valores de las ABC resultantes son idénticas.

El esquema terapéutico óptimo de MFX debería garantizar la remisión clínica, evitar o minimizar el riesgo de emergencia de resistencia bacteriana y facilitar la eliminación de las bacterias persistentes. Al ser MFX un antibiótico con actividad de tipo mixta, dos son los factores que determinan su eficacia. Por un lado se necesita una relación C_{max}/CIM que sea ≥ 10 y que el tiempo de exposición sea lo suficientemente prolongado para evitar el reinicio a la actividad de las bacterias persistentes. Al poseer MFX una semivida medianamente prolongada, las dos premisas se cumplen. Sin embargo, la dosis extrapolada del bovino (2 mg/kg), aunque reúne los requisitos para asegurar la remisión clínica, no es adecuada para evitar la emergencia de cepas resistentes. Por lo tanto fue necesario recalcular la dosis de MFX para que se adecue a la especie caprina y garantizase así la eficacia de la misma sobre *Escherichia coli*. La dosis estimada de 3,5 mg/kg, sería la dosis óptima para cumplir con los tres niveles de eficacia. Sin embargo, un esquema posológico de una administración diaria, está influido tanto por la prolongada permanencia de concentraciones obtenida con esta dosis $> CIM$ (19 h) como por la comodidad que representa el manejo de los animales solo una vez por día. La explotación caprina es considerada como parte de una economía de subsistencia de tipo familiar, donde un escaso número de animales por establecimiento constituyen una actividad productiva complementaria. En este contexto, los animales están alojados en la proximidad de la residencia familiar y en ese caso no debería ser una problemática adicional el tener que realizar dos tratamientos diarios en lugar de uno. La administración de dos dosis de 1,75 mg/kg con intervalos de 12 h, garantizan la misma dosis diaria, con la presencia de dos picos de concentración plasmática en un lapso de 24 h, garantizando una adecuada relación C_{max}/CIM (32,43) que favorecería por dos la actividad concentración dependiente de MFX. La relación ABC/CPM (21,4) no se modificaría, ya que con dos aplicaciones de 1,75 mg con un intervalo de 12 h, se estaría administrando por día la totalidad de la dosis estimada (3,5 mg/kg), y de esa manera el ABC resultante de esas dos aplicaciones de 1,75 mg/kg sería idéntica a la obtenida con una sola administración de 3,5 mg/kg (10,71 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$). Por otra parte, con este esquema posológico, las concentraciones de MFX se mantendrían por encima del valor de la CIM durante toda la duración del tratamiento, presentando además concentraciones mayores a la CPM durante 8 h en un período de 24 h. Es un hecho que las concentraciones de antibióticos menores a la CIM, favorecen la selección de cepas bacterianas con menor sensibilidad a la actividad de los antibióticos. Considerando este aspecto, la administración de una dosis de 3,5 mg/kg de MFX, repartida en dos dosis de 1,75 mg/kg separadas con un intervalo de 12 horas durante 3 días consecutivos, podría ser una alternativa posológica para el tratamiento de la colibacilosis en cabras.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008. Development of *in vitro* Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters for Veterinary Antimicrobial Agents; Approved Guideline, vol. 28, third ed. Document M37-A3. Wayne, Pennsylvania, USA.

Blondeau JM., 2009. New concepts in antimicrobial susceptibility testing: the mutant prevention concentration and mutant selection window approach. *Vet Dermatol.* 20(5-6):383-396.

Wetzstein HG., 2005. Comparative mutant prevention concentrations of pradofloxacin and other veterinary fluoroquinolones indicate differing potentials in preventing selection of resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 49(10):4166-4173.