

Actividad antibacteriana *in vitro* de marbofloxacina sobre *Escherichia coli* determinada por análisis de curvas de muerte bacteriana

Menseguéz S¹, Ferrer A¹, Anadón A¹, Dell'Elce A¹, Castromán R¹, Rubio G², Bertero J², Candiotti V², Baroni E¹, Picco E¹, Formentini E¹.

¹Laboratorio de Farmacología y Toxicología, FCV-UNL

²Cátedra de Semilogía, FCV-UNL

sofia.menseguez@hotmail.com

Marbofloxacina (MFX) es una fluoroquinolona (FQ) desarrollada exclusivamente para ser utilizada en medicina veterinaria. Presenta buena actividad sobre cepas de *Escherichia coli* (*E. coli*), por lo que se la utiliza en forma extra rótulo para tratar infecciones causadas por esta bacteria en cabras de tres a seis meses de edad. En este estudio evaluamos *in vitro* la actividad antibacteriana de MFX sobre una cepa de *E. coli* con un modelo de curva de muerte bacteriana y estimamos el valor del índice farmacocinético-farmacodinámico (PK-PD) determinado por la relación entre el área bajo la curva estimada desde tiempo cero a 24 h (ABC₂₄) y la concentración inhibitoria mínima (CIM) de MFX (ABC₂₄/CIM) que se necesita para lograr la erradicación bacteriana. Se utilizó una cepa estandarizada de *E. coli* (ATCC 25922) y un estándar de MFX de pureza conocida. La CIM de MFX sobre *E. coli* ATCC 25922 se determinó por medio de la técnica de macrodilución en tubo en un intervalo de concentraciones comprendido entre 0,0078 y 1 µg/mL. La curva de crecimiento y las curvas de muerte bacteriana a concentraciones constantes de MFX se realizaron según técnica previamente reportada, donde el recuento de bacterias viables del crecimiento control como en el resto de las concentraciones se realizó a tiempo 0 y a las 1 - 2 - 3,5 - 6 - 10 y 24 h. El conteo de bacterias viables en cada tiempo de muestreo y en cada concentración de MFX se expresó como logaritmo decimal de unidades formadoras de colonia por mililitro (log ufc/mL). Para cada concentración de MFX se estimó el valor del ABC₂₄ multiplicando la concentración x 24 (µg/mL x 24)¹. La eficacia de cada valor de ABC₂₄/CIM de MFX se estimó como la diferencia entre el log ufc/mL al final del ensayo (log N₂₄) y el log ufc/mL al inicio del ensayo (log N₀), utilizándose tres puntos de corte: a) acción bacteriostática, sin modificación del log N₀, equivalente a la CIM; b) acción bactericida con reducción de 3 log respecto del log N₀, equivalente a la concentración bactericida mínima (CBM) y c) acción de erradicación bacteriana con reducción de 4 log respecto del log N₀, equivalente a la concentración de erradicación bacteriana mínima (CEBM). Para estimar los valores necesarios de ABC₂₄/CIM necesarios para obtener los tres niveles de eficacia, los datos de (log N₂₄ - log N₀) obtenidos en cada valor de ABC₂₄/CIM fueron ajustados mediante regresión no lineal ponderada de mínimos cuadrados con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de Hill que se presenta en la siguiente ecuación.

$$E = E_0 + \frac{E_{max} \cdot \left(\frac{ABC_{24}}{CIM}\right)^n}{\left(\frac{ABC_{24}}{CIM}\right)_{50}^n + \left(\frac{ABC_{24}}{CIM}\right)^n}$$

Donde E es la eficacia expresada como (log N₂₄ - log N₀), E₀ es la eficacia basal, E_{max} es la máxima eficacia esperable, (ABC₂₄/CIM)₅₀, es la relación que logra el 50% de E_{max} y n es el coeficiente de sigmoidicidad o de Hill.

Los valores de ABC₀₋₂₄/CIM necesarios para obtener los tres niveles de eficacia se estimaron con la siguiente ecuación.

$$\frac{ABC_{24}}{CIM} = \left[\frac{E - E_0 \cdot \left(\frac{ABC_{24}}{CIM}\right)_{50}^n}{E_{max} + E_0 - E} \right]^{\frac{1}{n}}$$

Donde E es el efecto deseado (0, -3 o -4 log), ABC₂₄/CIM es el valor de la relación necesaria para obtener un efecto determinado. Los demás símbolos ya fueron explicados.

Los resultados de las curvas de muerte bacteriana de *E. coli* ATCC 25922 enfrentada a concentraciones fijas de MFX se presentan en la figura 1.

Figura 1. Resultado de las curvas de muerte bacteriana de *E. coli* enfrentada a concentraciones fijas de MFX, a, b y c representan los puntos de corte de las actividades bacteriostática (CIM), bactericida (CBM) y erradicación bacteriana (CEBM) respectivamente.

La relación entre los valores de ABC_{24}/CIM y la eficacia antibacteriana expresada como $(\log N_0 - \log N_{24})$ para la cepa de *E. coli* se presenta en la figura 2. La línea roja representa los valores estimados con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de Hill.

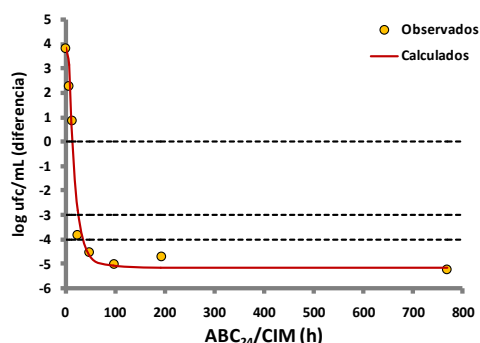


Tabla 1. Valores de ABC_{24}/CIM de MFX necesarios para obtener los efectos de CIM, CBM y CEBM sobre *E. coli* ATCC 25922.

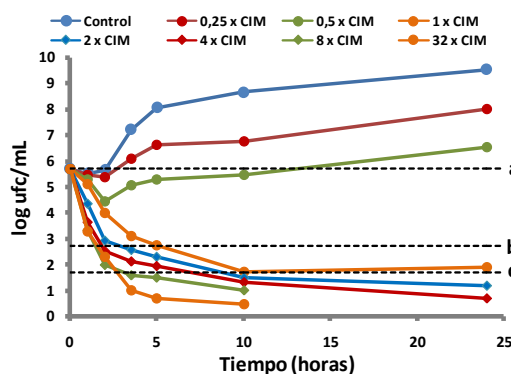


Figura 2. Relación entre los valores de ABC_{24}/CIM de MFX y la eficacia antibacteriana expresada como $(\log N_0 - \log N_{24})$ para la cepa de *E. coli* ATCC 25922. La línea roja representa los valores estimados con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de Hill, a, b y c representan los puntos de corte de las actividades bacteriostática (CIM), bactericida (CBM) y erradicación bacteriana (CEBM) respectivamente.

Los valores estimados de ABC_{24}/CIM necesarios para obtener los efectos de CIM, CBM y CEBM sobre *E. coli* ATCC 25922 se presentan en la tabla 1.

Reducción log ufc/mL	Eliminación bacteriana (%)	Actividad	ABC_{24}/CIM
0	0	Bacteriostática	14,2
-3	99,9	Bactericida	28,4
-4	99,99	Erradicación	33,4

En este estudio se observó que un valor de ABC_{24}/CIM de MFX de 33,4 h es suficiente para garantizar una reducción del conteo bacteriano de un inóculo de *E. coli* ATCC 25922 equivalente a una reducción de 4 log respecto del $\log N_0$, lo que se considera un efecto de erradicación bacteriana, compatible con la cura bacteriológica. Este valor de ABC_{24}/CIM ha sido reportado como adecuado para la resolución de cuadros infecciosos no graves y en pacientes que no tienen comprometida su respuesta inmune². Sin embargo, a los fines terapéuticos, se sigue considerando que para las FQs en general, un valor de $ABC_{24}/CIM \geq 125$ es adecuado para garantizar la resolución clínica en individuos con infecciones graves e inmunocomprometidos, como podría ser en el caso de las infecciones perinatales en cabras. Queda por evaluar cual sería la eficacia antibacteriana de idénticas relaciones de ABC/CIM de MFX sobre inóculos bacterianos de densidad elevada, que simulen cuadros infecciosos graves.

Bibliografía

- 1- Haritova, A.M.; Rusenova, N.V. (2010). In vitro antibacterial effect of enrofloxacin determined by time-killing curves analysis. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 13(4), 218-226.
- 2- Canut Blasco, A.; Aguilar Alfaro, L.; Cobo Reinoso, J.; Gimenez Mestre, M.J.; Rodríguez-Gascón. (2015). Análisis farmacocinético-farmacodinámico en microbiología: herramienta para evaluar el tratamiento antimicrobiano. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(1), 48-57.