

INTEGRACIÓN FARMACOCINÉTICA/FARMACODINÁMICA DE ESPIRAMICINA EN VACAS PORTADORAS DE MASTITIS SUBCLÍNICA CAUSADA POR *Staphylococcus aureus*

Lucas, M.*; Marchetti, L.; Lambertini, A.; Errecalde, J.; Mestorino, N.

Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

* Beca Doctoral CONICET.marianaflucas@gmail.com

Resumen:

Los objetivos del trabajo fueron evaluar el comportamiento farmacocinético (PK) de espiramicina en vacas en lactancia con mastitis subclínica por *Staphylococcus aureus* y calcular parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD). Seis vacas en lactancia y portadoras de mastitis subclínica por *S. aureus*, recibieron 3,75 mg/kg de espiramicina por la vía intramuscular a razón de 2 dosis con un intervalo de 24 h. El nivel productivo (L/día) tuvo efecto significativo sobre el perfil PK y PK/PD de espiramicina en leche bovina. El estado de salud de los cuartos mamarios no afectó la PK del antibiótico en leche. El protocolo terapéutico empleado no cumplió con las premisas básicas del uso racional de antimicrobianos desde el punto de vista PK/PD para el antimicrobiano testado y sus respectivas CIMs.

Introducción

La relación farmacocinética-farmacodinámica (PK/PD) permite establecer esquemas terapéuticos racionales minimizando la selección de cepas resistentes. Han sido determinados 3 parámetros a partir de relacionar la concentración inhibitoria mínima (CIM) del antimicrobiano frente al germen actuante con la concentración máxima alcanzada (C_{max}/CIM_{90}), con el área bajo la curva en función del tiempo (AUC_{0-24h}/CIM_{90}) y con el porcentaje de tiempo del intervalo inter-dosis durante el cual la concentración antibiótica permanece sobre la CIM ($T > CIM_{90}$). Los antimicrobianos se clasifican en 3 grupos: acción concentración dependiente, tiempo dependiente con mínima persistencia y tiempo dependiente con persistencia prolongada (1). Los macrólidos pertenecen a este último grupo y los parámetros PK/PD que mejor predicen su eficacia y disminuyen los riesgos de resistencia son un $T > CIM_{90}$ del 50-70% del intervalo inter-dosis (2) y una relación $AUC_{0-24h}/CIM_{90} > 100$ (3).

La espiramicina es utilizada en veterinaria para tratar infecciones causadas por microorganismos Gram-positivos y micoplasmas. Es una base débil muy liposoluble (pKa 8,2) que atraviesa las membranas lipídicas y se concentra intracelularmente. Las concentraciones tisulares llegan a ser 25-60 veces mayores que las séricas (4,5). Los objetivos del presente trabajo fueron estudiar el comportamiento PK y calcular los parámetros PK/PD de espiramicina en vacas lecheras portadoras de mastitis subclínica.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de 300 vacas Holstein, libres de mastitis clínica y pertenecientes a un tambo ubicado en Tandil, Prov. de Buenos Aires; se obtuvieron muestras pool preordeño para RCS y muestras de cada cuarto postordeño para cultivo microbiológico, según indica el National Mastitis Council (NMC) (6). Se obtuvieron 55 cepas sobre las que se estudió la susceptibilidad in vitro para seleccionar los animales experimentales. Fue condicionante que el *S. aureus* aislado fuera sensible a los macrólidos. Se utilizó un disco de azitromicina 15 µg (Lab. Britania, Argentina) y la técnica de antibiograma según indica el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (7). Se determinó la CIM de espiramicina sobre las 55 cepas (método de macrodilución, NCCLS) (7).

Se seleccionaron 6 vacas en lactancia (2 ordeños diarios) y portadoras de mastitis subclínica, en al menos un cuarto mamario. La media del peso corporal fue 545,00 ± 22,90 kg. El RCS promedio fue 706.167 ± 732.566 y la producción láctea media fue 17,5 ± 6,62 L/día.

Una solución acuosa de espiramicina (4293,98 UI/mg, Intervet Argentina) al 7,5% (adipato de espiramicina) fue administrada vía IM (zona glútea) y en 2 dosis de 3,75 mg/kg c/ 24 h. Se extrajeron muestras de sangre de cada vaca y leche de cada cuarto mamario a las 0, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 h post-1ª administración. Las concentraciones antibióticas en plasma y leche fueron determinadas por método microbiológico. Según la IX reunión del Comité del Codex sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos, los residuos de espiramicina corresponden a la sumatoria de los residuos de espiramicina y neoespiramicina (8). El límite de cuantificación (LDC) en leche fue 0,05 µg/mL y en plasma fue 0,0125 µg/mL.

Se realizó un análisis farmacocinético no compartimental utilizando el programa WinNonlin Professional 5.0 (Scientific consulting Inc, Cary, N.C.). Cada cuarto mamario fue considerado independiente (N=24), para comparar cuartos enfermos (N=10) vs sanos (N=14) y cuartos de vacas de alta producción (N=12) vs baja producción (N=12). Se determinó el perfil PK en plasma y en leche "pool" (concentraciones medias en leche de los cuatro cuartos de cada vaca). Los parámetros calculados fueron: concentración máxima (C_{max1}), tiempo al que se alcanza la C_{max} (T_{max1}) y semivida de eliminación ($T_{1/2\beta1}$) post 1ª-administración; C_{max2} , T_{max2} y $T_{1/2\beta2}$ post 2ª-administración, área bajo la curva de concentración láctea vs tiempo hasta



las 24 hs (AUC_{0-24h}), AUC al infinito ($AUC_{0-\infty}$), tiempo medio de residencia (MRT), clearance corporal (Clcorp), clearance mamario (Clmam) y relación AUC_{0-8} láctea/ AUC_{0-8} plasmática (Fláctea). Los parámetros PK/PD calculados fueron $T > CIM_{90}$ y AUC_{0-24h}/CIM_{90} . El diseño experimental fue completo y aleatorizado con arreglo factorial 2x2, agrupando los cuartos mamarios según nivel productivo del animal y estado sanitario del cuarto. Mediante un ANOVA para los rangos se evaluó el efecto de cada factor.

RESULTADOS

El 83,6% de las cepas eran sensibles a los macrólidos, 9,1% presentaban sensibilidad intermedia y 7,3% eran resistentes. La CIM_{90} y la CIM_{50} calculadas fueron 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$. En la Fig. 1 se presentan los perfiles de las concentraciones de espiramicina alcanzadas tras la administración IM de 2 dosis de espiramicina.

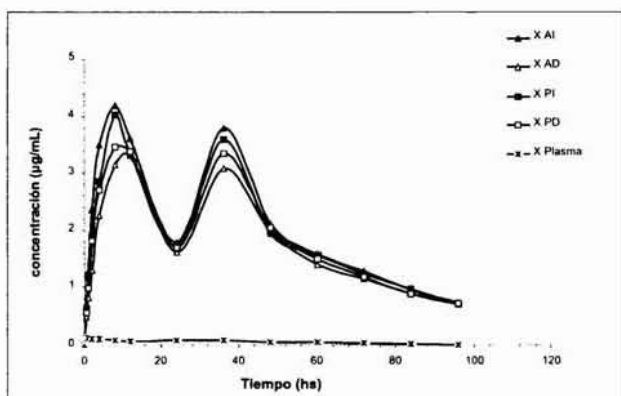


Fig 1: Concentraciones promedio de espiramicina vs tiempo en leche de cada cuarto mamario ($N=24$) y en plasma ($N=6$); luego de 2 dosis via IM, a razón de 3,75 mg/kg cada 24 hs.

El $T > CIM_{90}$ en cada cuarto mamario fue muy bajo y en el 58,33% de los cuartos la concentración en leche no superó la CIM. La relación AUC_{0-24h}/CIM_{90} no fue mayor a 100 en ningún caso. Sin embargo, el nivel de producción generó diferencias significativas sobre los parámetros PK/PD.

DISCUSIÓN

De las 55 cepas evaluadas para determinar la CIM, 1 no fue inhibida y las 54 restantes fueron inhibidas en el rango de concentraciones 0,125-8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (0,54-34 UI/mL). Han sido reportadas CIMs de 3,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (15 UI/mL) (9) y 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (5) frente a *S. aureus* aislados de leche de vacas mastíticas.

Tras la administración de espiramicina, las concentraciones lácteas fueron superiores a las plasmáticas. A partir de las $T_{1/2}$ se observó que post-1ª administración,

las concentraciones en leche decrecieron más rápido que en plasma y que post-2ª administración esta situación se invierte. Dicho fenómeno podría relacionarse con el ciclo entero-hepático (CEH) que presenta la espiramicina y con los tiempos de muestreo. La Fláctea indicó que el AUC_{0-8} láctea fue 46 veces superior a la plasmática. El Clmam fue inferior al Clcorp, evidenciando que la eliminación es más lenta en leche, donde las $C_{\text{máx}}$ fueron 30 veces superiores. Otros autores han reportado concentraciones lácteas 30-50 veces superiores a las plasmáticas (9).

La $F_{\text{láctea}}$ fue superior en cuartos mamarios de vacas de alta producción, evidenciando una tasa de pasaje plasma-leche mayor respecto a los de vacas de baja producción. Sin embargo, el AUC_{0-8} láctea fue superior en los cuartos de vacas de baja producción, y la $T_{1/2}$ fue más prolongada en el mismo grupo. Por lo tanto el MRT fue significativamente superior en los cuartos vacas de baja producción. Posiblemente la irrigación sanguínea o la relación estroma-parénquima glandular influyan en la tasa de pasaje plasma-leche.

No se observaron diferencias entre los parámetros PK de cuartos mastíticos y sanos y no hubo diferencias entre la variabilidad de los parámetros PK de cuartos mastíticos y sanos. Otros autores reportaron que la mastitis subclínica experimental no modificó la excreción de espiramicina en leche (9).

CONCLUSIONES

El estado de salud de la glándula no afectó el perfil PK ni los parámetros PK/PD en la leche. El nivel de producción ocasionó diferencias significativas entre los parámetros PK y PK/PD. En ninguno de los grupos se alcanzaron los objetivos PK/PD planteados. Se requieren nuevos estudios para determinar la razón por la cual la Fláctea fue superior en los cuartos de animales de alta producción, posible causa por la que el nivel productivo modifica el perfil PK y PK/PD lácteo. A partir de ello podrá establecerse un protocolo terapéutico, considerando la posibilidad de aumentar la dosis para alcanzar un $T > CIM_{90}$ de 50-70% y lograr una relación $AUC_{0-24h}/CIM_{90} > 100$. Luego será necesario un estudio de eficacia terapéutica a campo.

Summary:

The purpose of this study was to evaluate the spiramycin pharmacokinetic profile in lactating dairy cows with subclinical mastitis caused by *S. aureus*, and calculate the PK/PD parameters. Six Holstein lactating cows with subclinical mastitis were administered two 3.75 mg/kg IM doses of spiramycin, with a 24-hour interval. The production level (L/day) had an important effect over the bovine milk PK and PK/PD profile. The health status of the mammary quarters did not affect the PK profile of the antibiotic in



milk. The therapeutic protocol used did not accomplish the PK/PD basics premises of rational use of antimicrobial agents for the tested antimicrobial and its correspondent MICs.

REFERENCIAS

1. Andes, Craig. (1998) *Infect Dis Clin N Am*, 112:849-860
2. Bryskier, et al (1993) Structure and activity. In: Neu et al (eds): *The new macrolides, azalides and streptogramins*. 1ª ed, Marcel Dekker, USA.
3. Ronald (2000) *Int J Antimicrob Agents* 13:229-235
4. Prescott. (2002) Lincosamidas, macrólidos y pleuromutilinas. En: Prescott, et al (eds): *Terapéutica Antimicrobiana en Medicina Veterinaria*. 3ª ed, Argentina, Ed Intermédica.
5. Friis, et al (1988) Proc IVth Congress of European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology. Budapest.
6. NMC (1981) *Microbiologic procedures for use in the diagnosis of bovine mastitis*. 2nd ed. NMC. USA.
7. NCCLS (2002) *Approved Standard- Second Edition*. NCCLS document M1-A2. NCCLS, Pennsylvania, USA.
8. Comisión del Codex Alimentarius (1997) Informe de la IX reunión del Comité del Codex sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Ginebra.
9. Renard L, et al (1996) *J Vet Pharmacol Therap* 19: 95-103