

ubrolexin[®]

Manual Técnico

ubrolexin®

Ubrolexin® es un innovador tratamiento antibiótico de amplio espectro que proporciona una potente actividad bactericida frente a las bacterias Gram+ y Gram- causantes de mamitis.

Ubrolexin® contiene Xelerin®, una combinación de dos eficaces antibióticos (Cefalexina y Kanamicina). Xelerin® muestra una potente actividad antibacteriana sinérgica: el efecto de la Cefalexina se ve potenciado por la Kanamicina y viceversa.

Xelerin® produce una supresión del crecimiento bacteriano mayor y más duradera (efecto post-antibiótico) frente a los principales patógenos mamíticos, que la que producen los componentes individuales.

El efecto sinérgico de **Ubrolexin®** se traduce en una menor cantidad de antibiótico aplicada para conseguir la máxima eficacia.

Ubrolexin® se presenta en una formulación específicamente diseñada para ofrecer un tratamiento eficaz y práctico: sólo dos administraciones, una al día.

Índice

Implicaciones de las mastitis clínicas bovinas

1. Las mastitis clínicas bovinas tienen implicaciones globales	6
1.1 Mastitis clínicas	7
1.2 Mastitis subclínicas	8
2. La mastitis tiene implicaciones a nivel de bienestar animal	9

Xelerin®: Una combinación rigurosamente diseñada

1. Xelerin®: los antibióticos de la combinación	13
1.1. Cefalexina	13
1.2. Kanamicina	14
1.3. Su proporción	15
2. Mecanismo de sinergia	16
3. Farmacocinética	16
4. Farmacodinamia	18
5. Cinética de inactivación	18
5.1. Estudio 1	18
5.2. Estudio 2	20
6. Efecto Post-antibiótico (PAE)	23
6.1. PAE y PASME inducidos por Ubrolexin®	24

El tratamiento de rutina para las mastitis clínicas

1. Espectro de actividad	29
1.1 Datos de sensibilidad sobre los principales patógenos	29
1.2 Concentración Mínima Inhibitoria	30
2. Pauta de Tratamiento	31
3. Resultados del estudio de eficacia	33
4. Resistencias	37





Implicaciones de las mastitis
clínicas bovinas

ubrolexin®

**Implicaciones de las mastitis
clínicas bovinas**

1. Las mamitis tienen implicaciones a nivel económico

La mamitis bovina (bien sea clínica o subclínica) se considera la enfermedad más costosa en todas las explotaciones de vacuno de leche del mundo. En la mayoría de los rebaños europeos más del 50% de las vacas en lactación se infectan, en uno o más cuarterones, al menos una vez por lactación (Hillerton y Berry, 2005).

Las mamitis producen graves pérdidas económicas debido a una disminución en la producción de leche, una alteración en la composición de la misma, pérdidas por leche desechada, tratamientos, mano de obra, etc. (Hoogeveen, IDF 2005).

El objetivo en todas las explotaciones debería ser lograr una incidencia de nuevas mamitis inferior a un 2% mensual. Sin olvidarnos de las mamitis subclínicas cuyo principal problema es la falta de diagnóstico visual.

La incidencia de mamitis clínicas es variable en cada explotación, y depende principalmente del control de las **mamitis contagiosas** y del control del medio ambiente. Para controlar las mamitis contagiosas las explotaciones deben tener *Streptococcus agalactiae* erradicado y *Staphylococcus aureus* controlado (cultivo de leche de tanque negativo o menor del 5% de los animales de la explotación positivos). La problemática generada por las mamitis ambientales se reduce de forma considerable estableciendo un buen control del medio ambiente.

La incidencia de mamitis es variable a lo largo del año, estando relacionada con épocas de clima húmedo y cálido. Estos dos parámetros (humedad y temperatura) son los más importantes a tener en cuenta y en muchas ocasiones son difícilmente controlables. Ambos están correlacionados con la zona climática en que se ubica la explotación.

El coste de las mamitis clínicas debería valorarse en cada explotación ya que depende del tratamiento realizado y de la eficacia del diagnóstico en la sala de ordeño.

El coste medio por caso de mamitis se considera de 175 euros (Bar, Tauer y col, 2008).
El coste medio por caso, vaca y año es de 70 euros (Bar, Tauer y col, 2008).

Cada explotación debe trabajar para hallar el **coste real de una mamitis y su incidencia**. Esta valoración servirá para hacer planes de inversión, para mejorar la prevención y para analizar la evolución de la explotación con la finalidad de obtener una mejora substancial en la rentabilidad y una mejora de la calidad de la leche.

Para valorar el coste de las mamitis en una explotación real hay que tener en cuenta:

- **Mamitis clínicas:** son aquellas que el ganadero puede diagnosticar de forma macroscópica cuando observa la leche anormal producida por un animal en la sala de ordeño.
- **Mamitis subclínicas:** son aquellas que para diagnosticarlas necesitamos de algún tipo de ayuda, bien sea un recuento de células somáticas individual o bien a partir de la prueba del Test California.

La base para los cálculos será desde dos puntos diferentes:

- pérdidas por la incidencia de mamitis clínicas
- pérdidas por la incidencia de mamitis subclínicas

No se valorarán otros puntos como podría ser el incremento de la reposición de animales, incremento del sacrificio de animales, ... etc.

1.1 Mastitis clínicas

Las mastitis clínicas se valoran de manera individual para poder determinar el coste total una vez conocida la incidencia de mastitis clínicas en un periodo de tiempo. Dentro del grupo de mastitis clínicas se diferencia si las mastitis son leves (sólo está afectado el cuarterón) o si son graves (está afectado todo el animal) ya que esto influye de forma importante en el coste por caso.

Los puntos más importantes a valorar en cada caso son:

- los días de tratamiento antibiótico o sintomático
- el periodo de supresión de la leche por el tratamiento
- litros de leche en fase aguda
- disminución de la producción
- días retorno a la producción normal de leche
- litros perdidos después de la recuperación
- horas de trabajo por tratamiento
- coste del veterinario, cultivos microbiológicos y antibiogramas.

En la bibliografía hay muchos autores que han valorado el coste de una mastitis clínica, existiendo grandes diferencias entre ellos. Ello refuerza todavía más la idea de que lo ideal es tener una valoración correcta para cada explotación en cuestión.

De los datos de una ganadería española, un ejemplo de los costes medios de los diferentes tipos de mastitis podría ser:

	Mastitis Leves	Mastitis Graves
Coste medicamento	6 €	42 €
Días de tratamiento	3	4
Periodo de supresión	5	7
Litros de leche en fase aguda	25	10
Días retorno producción	6	14
Litros perdidos después de la recuperación	0	60
Horas de trabajo por tratamiento	1	1
Coste veterinario, cultivos	10 €	50 €
Costes totales por caso	90 €	220 €

Estos valores son válidos para muchas explotaciones, pero lo más correcto es que cada explotación valore o evalúe sus propios costes. Para así cerciorarse y evidenciar que toda inversión realizada para mejorar la incidencia de mastitis es rentable.

1.2 Mamitis subclínicas

Las mamitis subclínicas suponen una pérdida económica muy importante en las explotaciones. En muchos casos al ganadero le cuesta apreciar estas pérdidas. En general se dice que “las mamitis clínicas son la punta del iceberg dentro de la problemática”; por tanto la mayor parte de la problemática la constituyen las mamitis subclínicas. **Objetivamente por cada mamitis clínica hay entre 15 y 40 casos de mamitis subclínicas.**

Para poder valorar este tipo de mamitis de forma objetiva, se tiene en cuenta el recuento celular individual de las vacas en producción. La mamitis subclínica provoca una incapacidad del animal para producir leche. Esta incapacidad se traduce en un incremento del recuento celular en la leche producida por la vaca en cuestión.

Por tanto, **hay relación entre las células somáticas y las pérdidas de producción de leche que puede calcularse de la siguiente forma:**

1. Aplicar una fórmula para pasar el RCS (recuento de células somáticas) a un valor. Este valor se denomina “Linear Score”(LS).

$$LS= \ln(RCS/100)+3$$

2. A partir del Linear Score, se obtiene la pérdida de producción de leche de cada animal según sea de primer parto o de más partos. Los animales jóvenes pierden la mitad de producción de leche al día respecto a las vacas de más de un parto. Por cada punto de Linear Score las vacas de primera lactación pierden 0,6 litros de leche al día.
3. Sumando las pérdidas de producción de todos los animales en lactación se obtiene la cantidad de leche que se deja de producir debido a la incidencia de mamitis subclínica o por un alto recuento celular en la leche del tanque.

Nunca se puede hacer esta extrapolación directamente a partir del recuento celular medio de la leche del tanque ya que inducirá seguro a un error.

Hoy en día el control de mamitis sigue siendo el gran reto para los productores de leche, hecho perfectamente demostrable una vez conocido y analizado el sumatorio de pérdidas económicas por mamitis.

2. La mastitis tiene implicaciones a nivel de bienestar animal

Las mastitis son un grave problema de bienestar animal: además de poder producir la muerte de los animales, las mastitis causan dolor.

La mastitis es una enfermedad dolorosa ya que se ha demostrado que las vacas con mastitis sufren un aumento de la sensibilidad al dolor, incluso en casos leves o moderados (Fitzpatrick, 1998). La inflamación de la ubre, el aumento de la presión intramamaria o la liberación de sustancias como la bradiginina son las causas más evidentes del dolor en la mastitis (Borsberry, 2003).

La inflamación provoca alteraciones en el procesamiento de la información percibida, lo que conduce a un aumento de la sensibilidad al dolor y puede tener graves consecuencias para el animal (Milne, 2003).

Los tejidos afectados pueden llegar a ser extremadamente sensibles al contacto: en efecto, ha sido demostrado que la mastitis clínica va acompañada del aumento de los niveles de bradiginina, un potente inductor del dolor y del edema. Más aún, las concentraciones de bradiginina en la leche aumentan de forma espectacular en presencia de inflamación en la ubre y están directamente relacionadas con la gravedad de la mastitis (Eshraghi, 1999).

Por lo tanto, de acuerdo con Hillerton (2005) un tratamiento eficaz e inmediato es requisito indispensable para cumplir con las “Cinco Normas del Bienestar Animal” dictadas en el Reino Unido, especialmente “la liberación del dolor, lesiones y enfermedades”. El tratamiento inmediato y eficaz es también un requisito internacional para el buen cuidado de los animales según el nuevo Código de Buenas Prácticas Lecheras (IDF / FAO 2004).

Por lo tanto, hoy en día, el objetivo claro y la obligación de todos los involucrados no es sólo que la vaca produzca leche de la mejor calidad posible sino que, al hacerlo, aseguremos el bienestar del animal.







ubrolexin®

**Xelerin®: Una combinación
rigurosamente diseñada**

**Xelerin®: Una combinación
rigurosamente diseñada**

¿Qué justificación tienen las combinaciones antibióticas?

Según las prácticas de uso en medicina humana, se puede recomendar una terapia combinada con dos o más antibióticos, por los siguientes motivos:

- **Para aprovechar el potencial sinergismo entre diferentes agentes antiinfecciosos o grupos antimicrobianos.** El sinergismo se produce cuando los efectos de la combinación son mayores que la suma de los efectos de sus componentes por separado. El antagonismo se produce cuando un antibiótico, generalmente el que ejerce el menor efecto, interfiere con los efectos del otro componente.

En los mejores casos, las interacciones antimicrobianas entre los componentes de la combinación son sinérgicas y el resultado es una mejora de la actividad bactericida y/o un aumento de la tasa de inactivación en comparación con los efectos de los componentes individuales.

En algunos casos el sinergismo puede expresarse por un efecto post-antibiótico (PAE) más prolongado. Esto permite una disminución de la dosis de uno de los agentes antiinfecciosos, o de ambos, o bien la frecuencia de administración inter dosis (por consiguiente reduciendo con probabilidad el potencial de toxicidad dosis-dependiente de los agentes). Un ejemplo clásico de una combinación sinérgica en medicina humana es la de un β -lactámico y un aminoglucósido para tratar infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa*. Esta combinación muestra una capacidad de inactivación superior, incluso cuando se dosifica una vez al día, comparado con una dosis cada 8 horas del aminoglucósido, y muy superior al efecto que ejerce el aminoglucósido administrado una vez al día.

- **Para ampliar el espectro antimicrobiano cuando el diagnóstico etiológico está todavía pendiente.** En un paciente críticamente enfermo, o para tratar casos de emergencia, las combinaciones antimicrobianas proporcionan un espectro más amplio de actividad antibacteriana efectiva que puede ser útil cuando se espera un diagnóstico bacteriológico de un laboratorio de análisis, o porque se sospeche o se haya demostrado una infección polimicrobiana.
- **Para prevenir durante el tratamiento la emergencia de cepas resistentes a uno o más de los agentes empleados.** En comparación con los antibióticos de amplio espectro, la combinación de agentes que actúan independientemente tiene la ventaja añadida de disminuir el desarrollo de cepas mutantes resistentes. Ejemplos de este tipo de combinaciones incluyen la terapia triple o cuádruple de la tuberculosis, y la combinación de rifampicina con otra clase de agente, siempre que sea usado para el tratamiento de enfermedades no causadas por micobacterias.

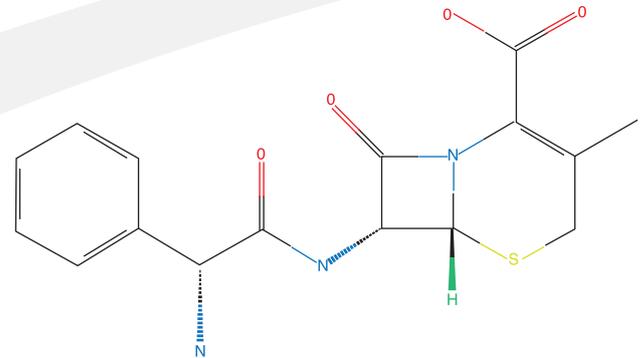
Bien orientados a un único agente patógeno o con una actividad antibacteriana de amplio espectro, las combinaciones antibióticas deben aspirar a ser complementarias, obtener un mejor perfil y superior actividad que sus componentes empleados de forma separada.

Ubrolexin® contiene una combinación fija de 2 antimicrobianos, Cefalexina monohidrato y Kanamicina monosulfato en la proporción determinada 1,5 : 1. Debido a las características específicas vinculadas a esta proporción, Ubrolexin® posee notables propiedades sinérgicas.

1. Xelerin®: los antibióticos de la combinación

1.1. Cefalexina

La Cefalexina es una cefalosporina de 1ª generación con una actividad bactericida tiempo-dependiente que se ejerce mediante inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana. La Cefalexina exhibe una mayor resistencia a la enzima β -lactamasa en comparación con la penicilina. Como una cefalosporina de 1ª generación, la Cefalexina es activa principalmente contra patógenos Gram+ incluyendo *Staphylococcus aureus* productores y no productores de penicilinas. La progresión de la 1ª a la 3ª generación de cefalosporinas se asocia a una mayor actividad contra bacterias Gram-, conservando al mismo tiempo buena actividad contra Gram+ (Martin, 1998). Las cefalosporinas de 2ª y 3ª generación generalmente son, sin embargo, menos activas contra estafilococos sensibles que las de 1ª generación. Las cefalosporinas de 4ª generación han ampliado su espectro y actividad contra bacterias Gram- en comparación con las otras clases de cefalosporinas (Hornish y Kotarski, 2002).



Estructura química de la Cefalexina

Cinética

La Cefalexina es una de las cefalosporinas más lipofílicas. Es un compuesto zwitteriónico con dos grupos laterales uno ácido y otro básico (con valores pKa de 2,8 y 6,6). Alrededor de un tercio del compuesto se encuentra en estado no-ionizado a un pH 6,8 (leche), que es una gran proporción en comparación con otras cefalosporinas.

Esto se traduce en una buena y mayor distribución a través de la ubre, así como una mejor penetración en los tejidos más profundos después de la aplicación intramamaria (Gehring y col, 2001).

Farmacodinamia/Actividad bactericida

La Cefalexina tiene un mecanismo de acción bactericida similar a todos los antibióticos β -lactámicos. Gracias a su similitud estructural, los agentes β -lactámicos pueden reaccionar químicamente con las transpeptidasas, enzimas que se encuentran en la porción interna de la pared celular bacteriana, también conocidas como proteínas fijadoras de penicilinas (PBPs; por sus siglas en inglés). Los agentes β -lactámicos pueden inactivar PBPs y evitar un mayor entrecruzamiento.

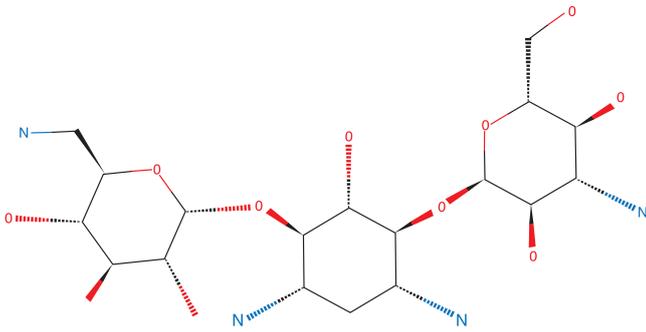
La inhibición del entrecruzamiento entre las cadenas peptídicas laterales de los peptidoglicanos conduce seguidamente a un debilitamiento de la pared celular, que finalmente se rompe a consecuencia de la presión osmótica. Además, el desencadenamiento de enzimas autolíticas de la pared celular se considera como un segundo y adicional objetivo de los agentes β -lactámicos.

Mecanismos de adquisición de resistencias

La resistencia a los antibióticos β -lactámicos está principalmente mediada por un gran número de β -lactamasas. Entre otros mecanismos se incluyen la adquisición de PBPs resistentes a β -lactámicos, pero también la reducción de la absorción de β -lactámicos por una alteración en la permeabilidad de la membrana externa de las bacterias o exportada por la presencia de transportadores multifármacos.

Toxicidad y efectos secundarios

Las cefalosporinas se encuentran entre los antimicrobianos más seguros. Sin embargo, las reacciones de hipersensibilidad a las penicilinas pueden dar lugar a una sensibilidad cruzada a cefalosporinas y viceversa.



Estructura química de la Kanamicina (pKa: 7,2)

1.2. Kanamicina

La Kanamicina es un antibiótico aminoglucósido con una actividad bactericida concentración-dependiente, mediada a través de la inhibición de la síntesis de proteínas bacterianas. La Kanamicina es principalmente activa contra patógenos Gram- y contra *Staphylococcus aureus*.

Cinética

La Kanamicina es una macromolécula de elevado peso molecular, con muy pobre solubilidad lipídica. Su aplicación intramamaria no comporta absorción hacia la circulación sistémica en vacas sanas (Ziv y Sulman, 1980; Sweeney y col, 1996).

Farmacodinamia/Actividad bactericida

El mecanismo de acción primario de los aminoglucósidos es una disminución de la síntesis de proteínas bacterianas. Después de que el antibiótico se haya unido a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, el complejo formado interfiere la fidelidad de la translación del mensaje genético causando mutaciones erróneas del código genético, lo que se traduce en un enlentecimiento o una completa inhibición del proceso de alargamiento de la cadena.

La incorporación de proteínas truncadas o incorrectamente plegadas en las membranas se supone que aumenta la permeabilidad pasiva de las membranas celulares. Esto se traduce en un incremento de la absorción del aminoglucósido lo que a su vez conduce a una acumulación irreversible del mismo en la bacteria. La elevada concentración intracelular de antibiótico resultante se cree que juega un papel clave en el efecto bactericida. Sin embargo, el rápido efecto letal observado sobre bacilos aeróbios Gram- sensibles puede que no sea debido únicamente a la inhibición de la síntesis proteica. La Kanamicina induce la formación de orificios transitorios en la pared celular lo que conduce a la interrupción de la permeabilidad normal de la pared celular. Esta acción por sí sola puede ser suficiente para inactivar muchas bacterias Gram- sensibles antes de que el aminoglucósido tenga la opción de alcanzar los ribosoma 30S.

Mecanismos de adquisición de resistencias

La resistencia a los antibióticos aminoglucósidos se produce por tres mecanismos diferentes: modificaciones en la diana (ribosomas), modificación del aminoglucósido, y falta de transporte del fármaco al interior de la célula. La modificación enzimática del aminoglucósido es el mecanismo más importante. Se produce en el interior de la bacteria y está causada por enzimas codificadas por plásmidos-R.

Toxicidad y efectos secundarios

Los aminoglucósidos pueden causar diversos grados de ototoxicidad y nefrotoxicidad (esta última en asociación con una terapia prolongada). Sin embargo, es poco probable que se produzca toxicidad sistémica después de la administración intramamaria de Kanamicina debido a su limitada posibilidad de absorción.

1.3. Su proporción

Ubrolexin® representa una combinación óptima de 200 mg de Cefalexina monohidrato y 133 mg de Kanamicina (100.000 UI) monosulfato en la proporción de 1,5 : 1.

Las concentraciones respectivas de Cefalexina y Kanamicina en la formulación están escogidas para alcanzar una mayor y sostenida actividad bactericida en la ubre, incluso con un intervalo interdosis de 24 horas.

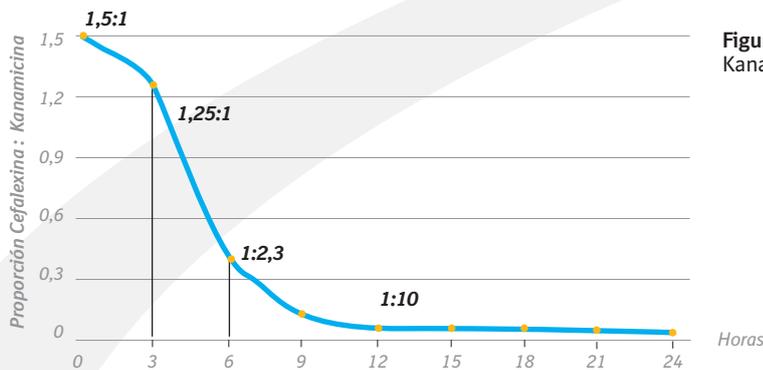


Figura 1. Variación de la proporción Cefalexina : Kanamicina en función del tiempo

Después de la administración intramamaria de Ubrolexin® se alcanza una gama de concentraciones en el cuarterón tratado que logra la lisis completa de *E. coli* en 9 horas, *Staphylococcus aureus* en 5 horas, *Streptococcus agalactiae* en 4 horas, *Streptococcus dysgalactiae* en 12 horas y *Streptococcus uberis* entre 12 y 24 horas.

Además, con la combinación se observan un efecto post-antibiótico (PAE) que permanece de 1 a 6 horas, así como un efecto post-antibiótico sub-CMI (PASME), que amplían el período de cobertura antibiótica y permiten prolongar el intervalo interdosis. Ver pauta de tratamiento, página 31



2. Mecanismo de sinergia

Uno de los mecanismos más comúnmente aceptados de sinergismo antibacteriano es el que se establece cuando se facilita una mayor absorción intracelular de un antimicrobiano gracias a la actividad del segundo sobre la pared celular del microorganismo (Pillai y col. 2005; Davis, 1982).

En la combinación antibiótica incluida en Ubrolexin® la Cefalexina es el componente activo sobre la pared celular que altera la permeabilidad de la bacteria. En combinación con Kanamicina, la Cefalexina facilita el acceso del aminoglucósido hacia su objetivo intracelular, las subunidades 30S de los ribosomas bacterianos, originando una actividad bactericida sinérgica.

Mediante su modo de acción complementario, Cefalexina y Kanamicina se combinan en Ubrolexin® de tal forma (en la proporción fija 1,5 : 1 y las concentraciones de antibióticos respectivas) que el sinergismo puede ser plenamente aprovechado a partir de sus propiedades respectivas.

Por consiguiente, la combinación Ubrolexin® está diseñada para alcanzar una mejora mutua de su respectiva actividad antimicrobiana y así ofrecer el índice de curación bacteriológica más efectivo.

3. Farmacocinética

Se han determinado las concentraciones en leche de Kanamicina y Cefalexina durante un periodo de 24 horas tras una única administración intramamaria de Ubrolexin®, correspondiente al intervalo de dosificación recomendado.

El ritmo de absorción de la Cefalexina desde el cuarterón tratado es elevado. Este hecho se debe a su elevado grado de solubilidad lipídica y a su relativamente alto porcentaje de fracción no-ionizada que se encuentra presente en leche (a pH 6,8). En contraposición, la absorción de la Kanamicina tiene lugar durante un periodo más prolongado, debido a su naturaleza básica y a su comparativamente pobre solubilidad lipídica.

Esta diferencia en el ritmo de absorción de ambos antibióticos determina que los valores de las proporciones de las concentraciones de Cefalexina y Kanamicina en leche varíen con el tiempo. La proporción inicial de concentraciones de Cefalexina: Kanamicina en Ubrolexin® es de 1,5 : 1; se estima que tras la aplicación intramamaria la proporción en leche cambia a 1,25 : 1 en aproximadamente 3 horas y a 1 : 2,3 en 6 horas.

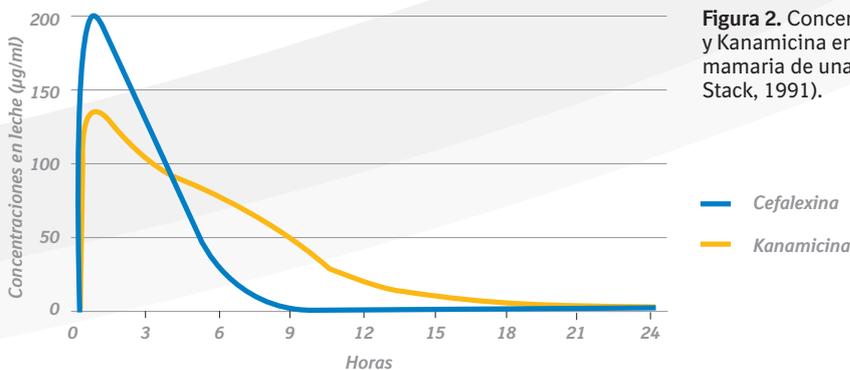


Figura 2. Concentraciones respectivas de Cefalexina y Kanamicina en leche tras la administración intramamaria de una jeringa de Ubrolexin® (adaptado de Stack, 1991).

El sinergismo puede definirse cualitativamente como una interacción positiva que se alcanza cuando el efecto combinado de dos fármacos es significativamente superior al resultado esperado, en base a sus efectos independientes cuando ambos fármacos se emplean por separado.

En base a esta definición empírica, algunas experiencias iniciales de combinaciones antimicrobianas tuvieron un resultado notable, como así lo demuestra el descubrimiento y estudio de la actividad bactericida sinérgica de la penicilina y estreptomycinina frente a enterococos.

En la actualidad, el uso de combinaciones de antimicrobianos para obtener actividad *in vitro* y eficacia clínica contra organismos que son resistentes a la inhibición y/o inactivación por concentraciones aceptables (no tóxicas) de los mismos agentes cuando se emplean individualmente, continúa siendo de gran importancia clínica (Pillai y col, 2005).

Curvas de inactivación para comprobar sinergismo

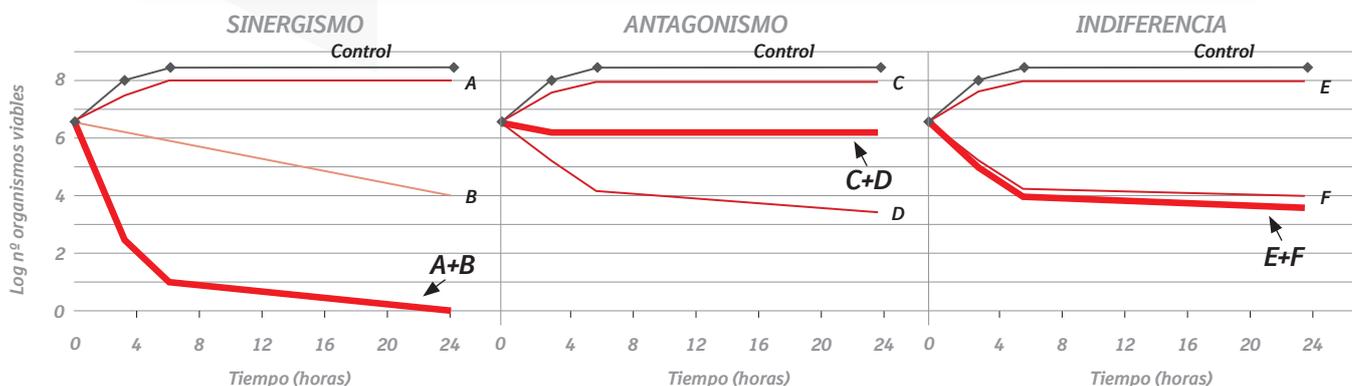
En contraste con otras técnicas basadas en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), que proporcionan sólo datos de inhibición, el método de las curvas de inactivación determina la actividad bactericida de la combinación en estudio. Por este motivo, con frecuencia resulta más importante en situaciones clínicas en que se desee una terapia bactericida (Pillai y col, 2005).

La mayor ventaja de la técnica de las curvas de inactivación reside en que ofrece una visión dinámica de la actividad bactericida con respecto al tiempo: la metodología del tiempo de inactivación se basa en determinaciones seriadas de recuento de colonias bacterianas (que se expresan en unidades formadoras de colonias / UFC por ml) a intervalos regulares, hasta las 12 ó 24 horas. Las curvas de inactivación o índices de inactivación se pueden a continuación representar a partir de los resultados de crecimiento, tras la administración de un antimicrobiano determinado.

Cada organismo se prueba frente a un agente antimicrobiano solo y en combinación a lo largo de un rango predefinido de diluciones de distintas concentraciones próximas a la CMI. Tras el recuento de colonias viables los resultados se representan en un sistema de coordenadas (empleando la abscisa para el tiempo y la ordenada para el recuento de colonias sobrevivientes en escala logarítmica).

La sinergia generalmente se define como un aumento de la lisis para la combinación ≥ 100 veces (al menos $2 \log_{10}$), en comparación con el agente individual más activo.

El efecto aditivo o la indiferencia se definen como un cambio para la combinación < 100 veces en el recuento de colonias, comparado con el del agente individual más activo.



4. Farmacodinamia

Desde un punto de vista farmacodinámico (actividad del fármaco contra el agente infeccioso), la Kanamicina tiene un marcado y rápido índice de inactivación concentración-dependiente, mientras que la Cefalexina tiene una actividad tiempo-dependiente.

Los efectos de Ubrolexin®, que es una formulación de una proporción fija de Cefalexina y Kanamicina diseñada para proporcionar actividad sinérgica, han demostrado ser superiores a los de la suma de los efectos de cada antibiótico de la combinación ensayado por separado.

La actividad bactericida sinérgica de Ubrolexin® ha sido determinada en una serie de estudios experimentales realizados *in vitro* frente a varias cepas bacterianas procedentes de casos no tratados de mamitis.

5. Cinética de inactivación

5.1. Estudio 1

Se realizó un primer estudio (Ganiere, 2008) para investigar la cinética de inactivación alcanzada por la combinación de Cefalexina y Kanamicina en la proporción 1,5 : 1 (proporción inicial de los antibióticos contenida en la jeringa intramamaria).

La actividad bactericida *in vitro* de Cefalexina y Kanamicina, solas y en combinación, fue determinada en medio Mueller Hinton frente a cepas de *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aisladas de casos de campo de mamitis bovinas.

En este estudio, se ensayaron varias concentraciones de Cefalexina : Kanamicina, en todos los casos en la proporción 1,5 : 1, que es la proporción contenida en la jeringa intramamaria Ubrolexin®.

Las curvas de inactivación representan las variaciones en el recuento de colonias en relación al tiempo: el eje-y representa el recuento de colonias sobrevivientes (en escala logarítmica) y el eje-x el tiempo en horas (escala aritmética). La actividad bactericida se define como una reducción en el recuento de bacterias viables (en UFC/ml) de al menos $3 \log_{10}$ (una reducción $\geq 99,9$), en comparación con el recuento a T0. Las figuras 3, 4 y 5 ilustran la cinética de inactivación de la Cefalexina y Kanamicina, tanto solas como en combinación frente a los diferentes organismos ensayados.



Cinética de inactivación de *Staphylococcus aureus*

La combinación actuó sinérgicamente contra *S. aureus* a concentraciones de Cefalexina: Kanamicina de 3 : 2 $\mu\text{g/ml}$, dando lugar a una actividad bactericida mucho más rápida que la Cefalexina o Kanamicina actuando por separado. Como se muestra en la Figura 3, la actividad bactericida de la combinación en la proporción 1,5 : 1 fue superior a la de los dos antibióticos individuales. Se observó la lisis completa de *Staphylococcus aureus* en 8 horas.

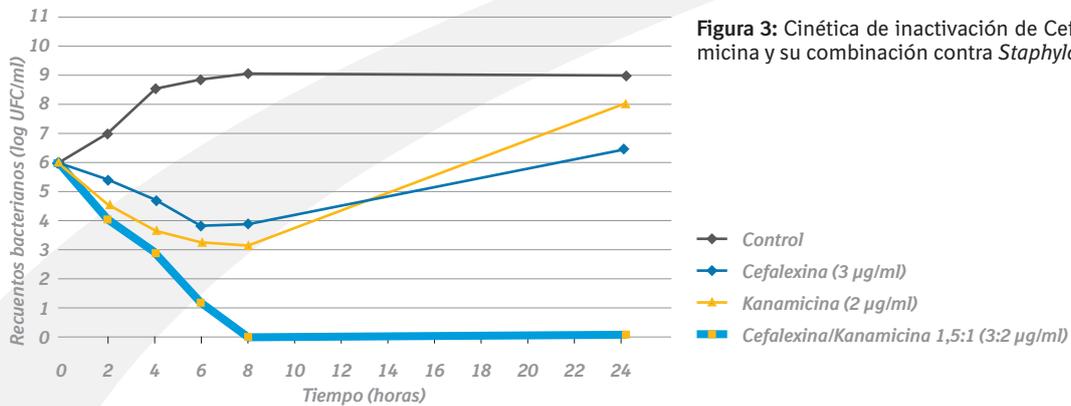


Figura 3: Cinética de inactivación de Cefalexina y Kanamicina y su combinación contra *Staphylococcus aureus*.

Cinética de inactivación de *Streptococcus uberis*

El ritmo de inactivación observado con Cefalexina: Kanamicina a concentraciones de 0,37 : 0,25 $\mu\text{g/ml}$ fue mucho mayor que el observado con Cefalexina sola a 0,37 $\mu\text{g/ml}$ (el antibiótico más activo de la combinación frente a este germen), con una reducción en el recuento bacteriano $> 3 \log_{10}$ a las 8 horas de exposición.

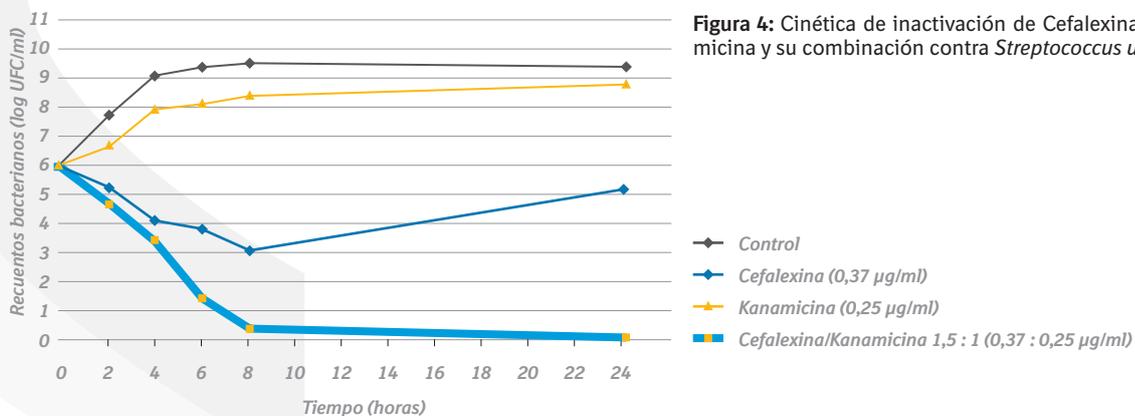


Figura 4: Cinética de inactivación de Cefalexina y Kanamicina y su combinación contra *Streptococcus uberis*.



Cinética de inactivación de *Escherichia coli*

Frente a *Escherichia coli* la combinación Cefalexina: Kanamicina mostró una actividad bactericida concentración-dependiente. Como se muestra en la Figura 5, a una concentración de Cefalexina: Kanamicina de 12 : 8 µg/ml la combinación alcanzó una superior y más rápida lisis de *E. coli* comparado con cualquiera de los antibióticos ensayados por separado, mostrando en consecuencia una clara actividad sinérgica. Se observó la lisis completa de *E. coli* en 4 horas.

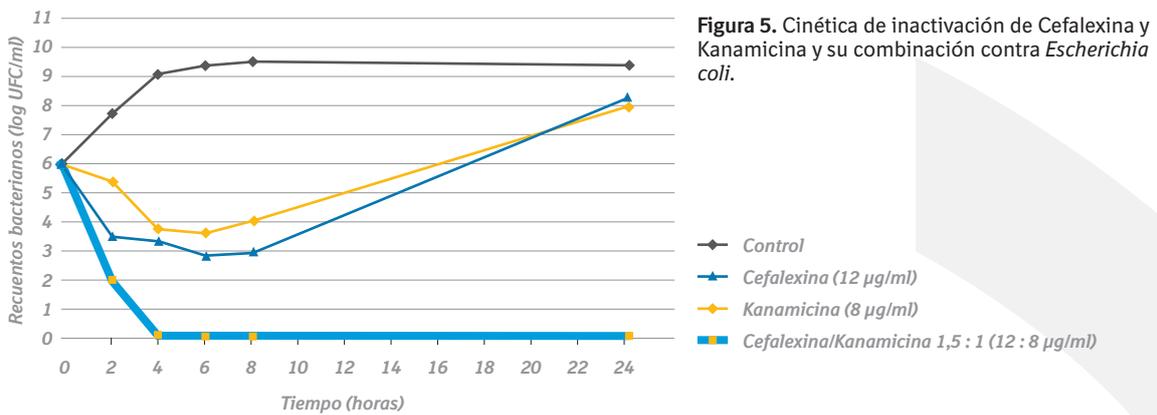


Figura 5. Cinética de inactivación de Cefalexina y Kanamicina y su combinación contra *Escherichia coli*.

El estudio de cinética de inactivación con la proporción inicial de Cefalexina: Kanamicina (1,5 : 1) demostró una interacción sinérgica entre los dos antibióticos, resultando una mayor y más rápida actividad bactericida contra los principales patógenos de la mastitis, en comparación con los antibióticos testados de forma individual.

5.2. Estudio 2

En otro estudio (Pridmore, 2007; Maneke, 2008) se determinó la cinética de inactivación de Cefalexina y Kanamicina (individualmente y en diferentes proporciones de la combinación) en medio Mueller Hinton frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Strep. dysgalactiae* y *Strep. uberis* aislados de casos de mastitis bovinas.

En este estudio, la actividad de inactivación de los antibióticos individuales y de la combinación fue ensayada a concentraciones próximas a múltiplos (2x, 4x, u 8x) de la concentración mínima inhibitoria. Las concentraciones de los antibióticos ensayadas son representativas de los niveles medios obtenidos *in vivo*.



Las proporciones empleadas de la combinación se basaron en las concentraciones que se alcanzan en la ubre tras la administración intramamaria de Ubrolexin®. Aproximadamente a las 3 horas de la administración se obtiene una proporción de Cefalexina: Kanamicina de 1,25 : 1; y aproximadamente a las 6 horas de la administración se obtiene en la ubre una proporción de Cefalexina: Kanamicina de 1 : 2,3 (ver apartado de Farmacocinética, página 16).

Cinética de inactivación de *Staphylococcus aureus*

La Cefalexina sola a concentraciones iguales a 4xCMI (8 µg/ml) mostró una actividad bacteriostática y tiempo-dependiente contra *Staphylococcus aureus*. Por su parte, la Kanamicina a dos veces la CMI (8 µg/ml) mostró una rápida actividad bactericida y la combinación causó un efecto bactericida incluso más rápido contra *S. aureus*, comparado con la Kanamicina sola, mostrando por lo tanto actividad sinérgica. Mediante la combinación antibiótica, y a una concentración similar a la que se alcanza en la ubre, se observó la lisis completa de *Staphylococcus aureus* en 2 horas.

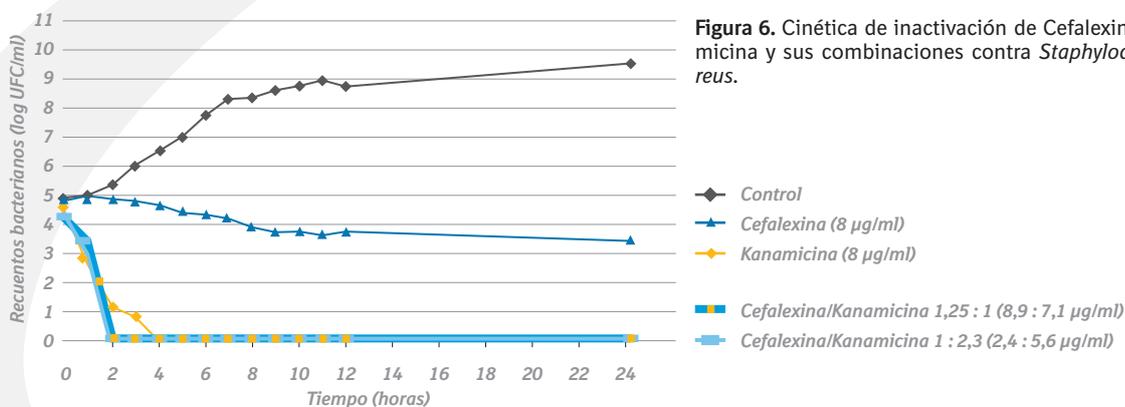


Figura 6. Cinética de inactivación de Cefalexina y Kanamicina y sus combinaciones contra *Staphylococcus aureus*.

Cinética de inactivación de *Streptococcus uberis*

En este ensayo, el efecto global tanto de Cefalexina como Kanamicina solas fue bacteriostático frente a *Streptococcus uberis* a concentraciones de 2 µg/ml y 32 µg/ml, respectivamente. Sin embargo, cuando se combinaron ambos antibióticos alcanzaron actividad bactericida, ejerciendo por consiguiente un efecto sinérgico frente a este germen.

Además se observó una actividad antibacteriana superior en comparación con los antibióticos actuando por separado, observándose una diferencia superior a 2 veces el logaritmo en 10-12 horas. En este caso el ritmo de inactivación fue claramente dependiente del tiempo. La lisis completa de *Streptococcus uberis* se alcanzó entre las 12 y 24 horas.

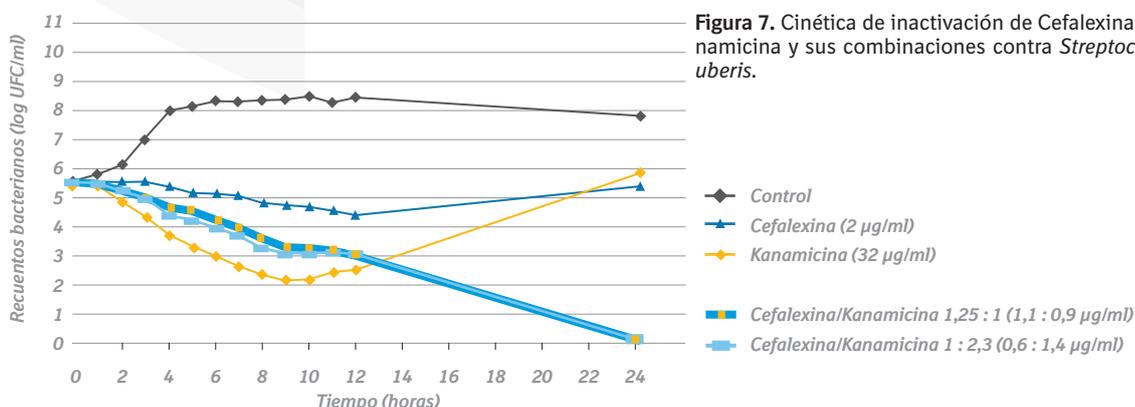


Figura 7. Cinética de inactivación de Cefalexina y Kanamicina y sus combinaciones contra *Streptococcus uberis*.

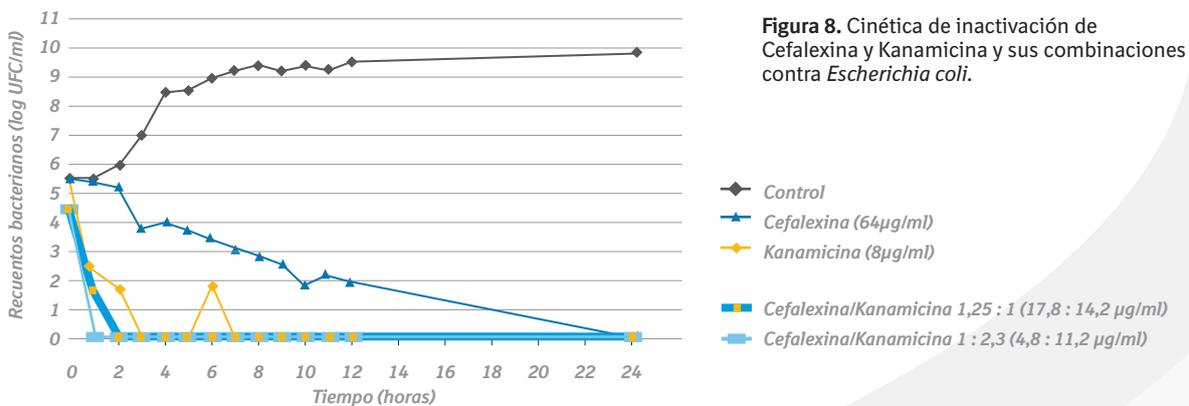
Frente a *Streptococcus agalactiae* la Cefalexina ejerció una rápida actividad bactericida tiempo-dependiente. En presencia de las combinaciones de Cefalexina-Kanamicina el tiempo necesario para la lisis fue más rápido que para Cefalexina sola, indicando con ello actividad sinérgica. La lisis completa de *Streptococcus agalactiae* se alcanzó en 4 horas.

Contra *Streptococcus dysgalactiae* las concentraciones de Cefalexina fueron bactericidas en 24 horas. La Kanamicina mostró actividad bactericida en 3 horas. Las combinaciones de ambos antibióticos causaron la lisis completa de *Streptococcus dysgalactiae* en 12 horas, incluso con concentraciones similares o inferiores a las de los antibióticos testados individualmente; las concentraciones de Kanamicina en las combinaciones fueron entre 11 y 32 veces inferiores a las del antibiótico por separado.

Cinética de inactivación de *Escherichia coli*

Frente a *Escherichia coli* la Cefalexina sola causó una disminución gradual, no dependiente de la concentración, en el recuento de organismos viables durante el proceso de incubación y fue bactericida en 8 horas a 4xCMI (64 µg/ml). Por su parte, la Kanamicina ejerció una rápida actividad bactericida a 2xCMI (8 µg/ml); el recuento de organismos viables cayó por debajo del límite de detección (LOD) en 3 horas.

Ambas proporciones de la combinación Cefalexina: Kanamicina dieron lugar a que el recuento de organismos viables cayera por debajo del LOD en 2 horas y la lisis completa de *E. coli* se obtuviera en 3 horas. Las combinaciones mostraron una lisis rápida lo que demostró un efecto sinérgico evidente contra *Escherichia coli*, a concentraciones antibióticas similares a las que se alcanzan en la ubre.



Ubrolexin® es bactericida frente a los principales patógenos involucrados en mastitis bovinas.

La lisis completa de los principales patógenos se produce en 4–24 horas, a las concentraciones antibióticas que se alcanzan en la ubre.

Además de ser bactericida, Ubrolexin® tiene un mayor efecto sobre todos los patógenos ensayados lo que permite utilizar en cada tratamiento una menor cantidad total de antibiótico.

6. Efecto Post-antibiótico (PAE)

Durante el testaje de antimicrobianos *in vitro*, se comprobó que al retirar el antibiótico existía una demora hasta que el microorganismo volvía a entrar en período de crecimiento logarítmico, a este fenómeno se le denominó efecto post-antibiótico (PAE; por sus siglas en inglés). El PAE se define como la supresión del crecimiento bacteriano que persiste tras una breve exposición de un microorganismo a un agente antimicrobiano (Mouton y col, 2002). Su duración es germen y antimicrobiano dependiente.

El efecto post-antibiótico explica por qué un antimicrobiano puede suprimir el crecimiento bacteriano mucho tiempo después de una exposición directa. Un microorganismo en fase de retraso de recrecimiento por el PAE es más susceptible a reducir su crecimiento a concentraciones sub-CMI de antimicrobianos. El efecto post-antibiótico sub-CMI (PASME; por sus siglas en inglés) se define como la duración de la supresión del crecimiento bacteriano a concentraciones de un agente antimicrobiano inferiores a la CMI tras una corta exposición a concentraciones superiores. Este efecto es responsable de una prolongación de la inhibición del crecimiento bacteriano a pesar de estar sometido a bajas concentraciones del antibiótico.

Como otros parámetros farmacodinámicos, como la cinética de inactivación, el PAE describe con mayor aproximación el curso de la actividad antimicrobiana *in vivo* que la CMI (concentración mínima inhibitoria) o la CMB (concentración mínima bactericida), y facilita un uso más racional de los antimicrobianos al permitir una mejor selección de la cantidad adecuada de un antibiótico, con un intervalo interdosis óptimo y por un período de tiempo adecuado.

Determinación del PAE

Para determinar el PAE se han empleado varios métodos *in vitro*, buscando cuantificar la cinética de crecimiento microbiano tras la retirada del agente antimicrobiano. La mayoría de ellos consiste en la retirada rápida del agente antimicrobiano del medio de cultivo mediante lavado repetido, dilución, filtración o inactivación del antimicrobiano.

El lavado repetido de los microorganismos es un método comúnmente empleado para la retirada rápida del fármaco: suspensiones estandarizadas de cepas bacterianas se someten a los compuestos antibacterianos (o combinaciones de ellos). Las cepas se someten a estos tratamientos iniciales durante 1 a 3 horas de incubación. Se preparan también controles sin antibiótico que se incuban durante el mismo período de tiempo que las preparaciones tratadas. Tras el período inicial de exposición, los agentes antimicrobianos se retiran mediante centrifugación y lavado. Las suspensiones bacterianas se incuban a continuación en medios de cultivo sin la presencia de antibióticos.

Para la determinación del PASME las suspensiones bacterianas se incuban tras el lavado en medios de cultivo que contienen la cantidad apropiada del fármaco de prueba, o de las combinaciones a testar, empleando concentraciones equivalentes a $\frac{1}{4}$ CMI ó $\frac{1}{2}$ CMI. Se determina a continuación la cinética del crecimiento microbiano mediante el recuento de organismos viables (UFC/ml).

La duración, o incluso la presencia de PAE, puede verse afectada por diferentes factores. Los más importantes son el tipo de microorganismo y la clase de antibiótico. Los antibióticos aminoglucósidos, fluoroquinolonas, eritromicina, clindamicina y tetraciclinas inducen *in vivo* PAE contra organismos Gram-. Los antibióticos β -lactámicos no producen PAE contra organismos Gram-, sin embargo sí que lo producen contra organismos Gram+.

Las combinaciones de agentes antimicrobianos pueden también inducir PAEs que difieren de los inducidos por los componentes de la combinación por separado. Por consiguiente, se puede también definir un patrón de comportamiento sinérgico cuando los PAEs inducidos por la combinación son más prolongados que la suma de los efectos individuales de los componentes individuales (Craig y Gudmundsson, 1996).

La mayor relevancia clínica del PAE reside en su impacto en el intervalo interdosis: los antimicrobianos que no demuestran ejercer un PAE significativo requieren administraciones más frecuentes que los que inducen PAE, y los agentes que inducen un PAE prolongado pueden ser administrados con mayores intervalos interdosis sin perder eficacia (Gudmundsson y col, 1990).

6.1. PAE y PASME inducidos por Ubrolexin®

Los efectos post-antibiótico (PAE) y post-antibiótico sub-CMI (PASME) inducidos por Cefalexina y Kanamicina y sus combinaciones resultantes fueron estudiados *in vitro* frente a cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus dysgalactiae*.

Los resultados de estos estudios mostraron marcados efectos PAE y PASME frente a todas las cepas tras la exposición a la combinación (Tabla 1). Frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus dysgalactiae* el PAE inducido por Ubrolexin® fue mayor que el producido por Cefalexina o Kanamicina solas, aunque las concentraciones absolutas de los antibióticos que se emplearon en la combinación fueron menores.

Como cabía esperar, frente a la mayoría de las cepas ensayadas el PASME inducido fue mayor que el correspondiente PAE.

Microorganismo	Concentración (µg/ml)	PAE (h) (4x CMI)	PASME (h) (1/2x CMI)	PASME (h) (1/2x CMI)
<i>E. coli</i>	2,4 : 5,6	1,1	1,6	6,5
<i>S. aureus</i>	1,2 : 2,8	6,1	5,7	8,5
<i>Strep. dysgalactiae</i>	2,4 : 5,6	4,2	6,2	> 10,2
<i>Strep. agalactiae</i>	2,4 : 5,6	3	3,8	6,9
<i>Strep. uberis</i>	0,6 : 1,4	1,6	3,7	4,3

Tabla1. PAE y PASME de Ubrolexin®

La combinación contenida en Ubrolexin® induce una mayor supresión del crecimiento bacteriano (PAE) contra todos los patógenos involucrados en mastitis bovinas comparado con sus componentes individuales.

Ubrolexin® también induce un PASME significativo, lo que refleja su actividad antimicrobiana incluso con bajas concentraciones de antibiótico.

Los efectos PAE y PASME demostrados para la combinación Cefalexina: Kanamicina permiten establecer un intervalo interdosis de 24 horas para Ubrolexin® sin perder eficacia.

Referencias

- Craig, W.A. and S.Gudmundsson (1996) Postantibiotic effect. In V. Lorian (ed.) *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4th ed. pp. 296-329. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Davis B.D. (1982) Bactericidal synergism between beta-lactams and aminoglycosides: mechanism and possible therapeutic implications. *Rev Infect Dis.* Mar-Apr;4(2):237-45.
- Ganière J.P. (2008) Comparative synergistic activity of a Cefalexin and Kanamycin combination in Mueller Hinton broth Medium and in Milk in Proceedings of International Conference Mastitis Control, The Hague, NL.
- Gehring R. and G.W. Smith (2006) An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparations used to treat bovine mastitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 29, 237-241.
- Gudmundsson S., H. Erlendottir, M. Gottfredson and A. Gudmundson (1990) The postantibiotic effect induced by antimicrobial combinations. *Scand J Infect Dis Suppl.* 74:80-93.
- Hornish R.E. and S.F. Kotarski (2002) Cephalosporins in *Veterinary Medicine – Ceftiofur use in food animals.* *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2, 717-731.
- Lorian V. and J. Ernst (1998) Activity of Amikacin and Ampicillin in Succession and in Combination. *Victor Diagn Microbiol Infect Dis* 11(3):163-9.
- Magnet, S. and J.S. Blanchard (2005) Molecular insights into aminoglycoside action and resistance. *Chem Rev* 105, 477-498.
- Maneke, E., A. Pridmore, and I. Lang (2008) Advantage of cefalexin and kanamycin in combination to control bovine mastitis in Proceedings of International Conference Mastitis Control, The Hague, NL.
- Maneke, E., A. Pridmore, and I. Lang (2008) Control of bovine mastitis using a combination of Cefalexin and Kanamycin in Proceedings of the International conference on antimicrobial agents in veterinary medicine, Prague, Czech Republic.
- Martin A.R. (1998). *Antibacterial Antibiotics* (chapter 10). In *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, 10th ed., Delgado J.N. and Remers W.A. (editors), Lippincott-Raven, Philadelphia, New York, p 253-326.
- Mouton J.W., M.N. Dudley, O. Cars, H. Derendorf and G.L. Drusano (2002) Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs. *International Journal of Antimicrobial Agents* 19: 355-358.
- Pillai S., R. C. Moellering and G. M. Eliopoulos (2005) Antimicrobial combinations. In V. Lorian (ed.) *Antibiotics in laboratory medicine*, 5th ed.p. 365-424. In. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Prescot J.F. and J.D. Baggot (1993) Chapter 10. Aminoglycosides and aminocyclitols. In 'Antimicrobial therapy in veterinary medicine' 2nd edition, p 144-178.
- Pridmore A. (2007) Activity of cefalexin and kanamycin (individually and in combination) against bacterial strains associated with bovine mastitis: determination of Post Antibiotic Effect (PAE), Post Antibiotic sub-MIC Effect (PA SME) and sub-MIC effect (SME). *BI Vetmedica Study report no.* 2006135.
- Pridmore A. (2007). Activity of cefalexin and kanamycin (individually and in combination) against bacterial strains associated with bovine mastitis: determination of antibacterial kill kinetics. *BI Vetmedica Study report no.* 2006131.
- Riviere J.E. and J.W. Spoo (2001) Chapter 43 Aminoglycoside antibiotics. In 'Veterinary Pharmacology and Therapeutics' 8th edition, p 841-867.
- Stack M. (1991) A study to evaluate the pharmacokinetics and residue depletion of the intramammary product containing cefalexin and kanamycin. *Study 17r - Univet Ltd.*
- Sweeney R.W., M.A. Fennell, C.M. Smith, P.C. Bardalaye (1996) Systemic absorption of gentamicin following intramammary administration to cows with mastitis. *J Vet Pharmacol Ther* 19(2):155-7.
- White R. L., D. S. Burgess, M. Manduru, and J. A. Bosso (1996) Comparison of Three Different In Vitro Methods of Detecting Synergy: Time-Kill, Checkerboard, and E test. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, p. 1914-1918.
- Ziv G. and F.G. Sulman (1975) Absorption of antibiotics by the bovine udder. *J Dairy Sci.* 58(11):1637-44.





ubrolexⁱⁿ

**El tratamiento de rutina
para las mamitis clínicas**

**El tratamiento de rutina
para las mamitis clínicas**

”Antibióticos de amplio espectro frente a los de espectro selectivo”

Un antibiótico de amplio espectro generalmente es definido como un agente antimicrobiano que es capaz de matar o inactivar a todas las bacterias clínicamente importantes, mientras que un antibiótico de espectro selectivo tendrá una actividad más enfocada frente a un menor número de gérmenes.

Tal definición puede, sin embargo, diferir dependiendo de distintos puntos de vista. Desde una perspectiva microbiológica, “selectiva” se puede referir a una determinada clase de microorganismos (por ejemplo: cocos Gram+, bacilos Gram-, etc.) o se puede referir también a un género o especie de una bacteria determinada (Ej. *Staphylococcus aureus*). Generalmente los agentes antimicrobianos activos sólo frente a cocos Gram+ o bacilos Gram- son considerados de espectro selectivo, mientras que los agentes activos frente a ambos, son considerados de amplio espectro.

Para un clínico, las ventajas potenciales de los agentes antimicrobianos de amplio espectro podrían ser la seguridad o tranquilidad que confieren en tratamientos en los cuales se desconoce el agente etiológico o también en el tratamiento de infecciones polimicrobianas. Sin embargo, los compuestos de amplio espectro son acusados también de inculcar un sentido falso de seguridad y de actuar como promotores potenciales de determinadas resistencias en múltiples organismos.

Por el contrario, los agentes de espectro selectivo no están expuestos a múltiples determinantes de resistencia y, por lo tanto, pueden ser menos propensos a sufrirlas. Junto con la dosis apropiada, el intervalo de dosificación y la duración del tratamiento, estos fármacos son recomendados alternativa-mente para intentar reducir el riesgo de selección de resistencias. Sin embargo, cuando son utilizados solos, estos agentes no son apropiados para el manejo o tratamiento de infecciones polimicrobianas. Además, su uso prudente requeriría normalmente un diagnóstico rápido y preciso, para la identificación del agente patógeno.



1. Espectro de actividad

Ubrolexin® proporciona un amplio espectro de actividad para el tratamiento de las mastitis clínicas.

Mientras la Cefalexina es principalmente activa frente a bacterias Gram+ (incluyendo cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de β -lactamasas), la actividad antimicrobiana de la Kanamicina está dirigida principalmente hacia bacterias Gram – aeróbicas y *Staphylococcus aureus*.

Ubrolexin® compensa la actividad moderada de la Cefalexina frente a bacterias Gram– mediante la inclusión de Kanamicina. Asimismo, la actividad limitada de la Kanamicina sobre estreptococos se ve reforzada por la presencia de Cefalexina.

Por lo tanto, el espectro de acción de Ubrolexin® es amplio, e incluye a los patógenos bacterianos más importantes en mastitis. Esto se debe a la actividad sinérgica de la combinación de dos antibióticos de espectro selectivo, con actividad bactericida reducida a un grupo determinado de patógenos.

De esta forma, Ubrolexin® está indicado para el tratamiento de mastitis clínicas causadas por bacterias Gram+ y Gram– tales como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Escherichia coli*.

1.1 Datos de sensibilidad sobre los principales patógenos

Se aislaron 604 cepas bacterianas de casos de mastitis clínicas de Alemania, Francia y el Reino Unido. Estas cepas se sometieron a pruebas de sensibilidad frente a Ubrolexin® (Friton, 2005).

Más del 90% de los principales patógenos (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus* y *E. coli*) fueron sensibles *in vitro* a Ubrolexin®.

Bacteria	Nº de Aislamientos	Susceptibilidad a Ubrolexin® (%)*
Especies de <i>Staphylococcus</i>:		
<i>S. aureus</i>	74	100
Otros <i>Staphylococcus spp.</i>	102	100
Especies de <i>Streptococcus</i>:		
<i>Strep. agalactiae</i>	6	100
<i>Strep. dysgalactiae</i>	49	94
<i>Strep. uberis</i>	194	93
Otros <i>Streptococcus spp</i>	6	100
<i>Enterococcus spp</i>	12	50
Enterobacterias		
<i>E. coli</i>	118	99
<i>Klebsiella spp.</i>	8	100
<i>Serratia marescens</i>	11	100
Otras <i>Enterobacteriaceae</i>	24	83

Susceptibilidad a Ubrolexin® (%)* Máxima concentración \leq 12/8 μ g/ml Cefalexina/Kanamicina

Tabla 2. Resultados de sensibilidad combinados de las 604 cepas aisladas de casos de mastitis clínicas en Reino Unido, Francia y Alemania.

La Cefalexina que contiene Ubrolexin® proporciona una potente actividad frente a bacterias Gram+ mientras que la Kanamicina aumenta la actividad de la combinación frente a *Staphylococcus aureus* y *E.coli*.

El amplio espectro que ofrece Ubrolexin® es el resultado de la combinación de dos antibióticos con un espectro de acción selectivo y de comprobada eficacia.

1.2 Concentración Mínima Inhibitoria

La concentración mínima inhibitoria (CMI) de Cefalexina, Kanamicina y dos combinaciones fijas de estos dos antibióticos (en las proporciones Cefalexina : Kanamicina de 1,25 : 1 y 1 : 2,3) fueron determinadas para 5 especies bacterianas diferentes de casos de vacas con mastitis, no tratadas, en Alemania, Reino Unido y Francia: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus dysgalactiae*. Ver Tabla 3.

La determinación de la CMI se llevó a cabo utilizando la metodología estándar de dilución en medio de cultivo, según las recomendaciones de la CLSI (Key, 2007).

Cepas de Bacterianas	Cefalexina	Kanamicina	Proporción 1,25 : 1	Proporción 1 : 2,3
<i>S. aureus</i>	2	4	0,56 : 0,44	0,6 : 1,4
<i>S. aureus</i>	2	4	1,11 : 0,89	0,3 : 0,7
<i>Strep. agalactiae</i>	0,5	64	0,56 : 0,44	0,6 : 1,4
<i>Strep. agalactiae</i>	2	256	4,44 : 3,56	4,85 : 11,15
<i>Strep. dysgalactiae</i>	0,5	128	0,56 : 0,44	0,6 : 1,4
<i>Strep. dysgalactiae</i>	0,5	64	0,56 : 0,44	0,6 : 1,4
<i>Strep. uberis</i>	0,5	16	0,14 : 0,11	0,15 : 0,35
<i>Strep. uberis</i>	0,25	32	0,28 : 0,22	0,3 : 0,7
<i>E. coli</i>	16	4	1,11 : 0,89	2,42 : 5,58
<i>E. coli</i>	16	4	2,22 : 1,78	0,6 : 1,4

Tabla 3. Concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/ml}$) de Cefalexina y Kanamicina sola y en combinaciones fijas contra especies bacterianas asociadas a mastitis bovinas.

Las CMIs de las 2 combinaciones ensayadas fueron consistentemente menores que las de Cefalexina o Kanamicina por separado.

El sinergismo entre los dos componentes fue particularmente excepcional frente a las cepas de estreptococos para las cuales las CMIs fueron mucho menores que las CMIs de la Kanamicina sola.

Frente a los principales patógenos causantes de mastitis, Ubrolexin® muestra CMIs comparables o menores que las CMIs necesarias de Cefalexina y Kanamicina cuando se prueban individualmente.

2. Pauta de Tratamiento

La pauta de tratamiento con Ubrolexin® consiste en 2 aplicaciones intramamarias, durante dos días consecutivos, en un intervalo de 24 horas.

Este intervalo de dosificación recomendado se basa no sólo en el tiempo en que las concentraciones antibióticas permanecen por encima de las CMI's, sino que también tiene en cuenta parámetros farmacodinámicos de Ubrolexin®, tales como la cinética de inactivación bacteriana, el efecto post-antibiótico (PAE), así como el efecto post-antibiótico sub-CMI (PASME).

La relevancia clínica más importante del PAE se debe a su impacto en el intervalo interdosis, ya que los agentes que inducen un PAE más prolongado pueden ser administrados con intervalos de dosificación más amplios que los que normalmente se recomiendan, sin pérdida de eficacia (Gudmundsson, 1990).

Un enfoque dinámico de la farmacocinética y farmacodinamia (PK/PD) basado en la cinética de inactivación es un enfoque más racional para describir las interacciones del fármaco con el microorganismo *in vivo*, que el clásico acercamiento basado únicamente en las CMI's, que proporciona una información limitada sobre la cinética de acción del fármaco sobre el microorganismo (Mueller y col., 2004). Las concentraciones suprainhedorias de los componentes activos son, de hecho, siempre seguidas por concentraciones subinhedorias: en los casos en que se observa PAE se produce un retraso prolongado del crecimiento bacteriano hasta que se reanuda, mientras permanecen las concentraciones subinhedorias (Odenholt-Tornquist y col., 1991).

Las curvas de cinética de inactivación claramente demuestran que, a las concentraciones alcanzadas en el cuarterón tratado, Ubrolexin® ejerce la mayor parte de su actividad bactericida durante las primeras 12 horas tras su administración.

Pero además, se observa un efecto post-antibiótico que tiene una duración de 1,1 horas (en el caso de *E. coli*) a 6,1 horas (en el caso de *Staphylococcus aureus*) y el PASME supera al PAE, con una duración de 6,5 horas para *E. coli* hasta más de 10 horas para *Streptococcus agalactiae*. Ver Efecto post- antibiótico en página 23.

El intervalo de dosificación recomendado es, por lo tanto, suficiente para causar la muerte de los principales patógenos causantes de mamitis.

Ubrolexin® utilizando una pauta de tratamiento de una dosis diaria proporciona una actividad bactericida eficaz.

La eficacia de este intervalo de dosificación está apoyada por la rápida cinética de inactivación y por el prolongado efecto post-antibiótico que muestra la combinación.

¿En qué se basa la pauta de tratamiento de un antibiótico?

La pauta de tratamiento describe la dosis de unidad antibiótica, la frecuencia de administración y la duración total del tratamiento. El objetivo es alcanzar una concentración antibiótica eficaz en el sitio de la infección durante un periodo de tiempo suficiente.

Cuando se define la pauta de tratamiento óptima para un antibiótico es importante considerar tanto las propiedades farmacocinéticas (PK; por sus siglas en inglés) (es decir: la distribución de la droga en el hospedador), como las propiedades farmacodinámicas (PD) (es decir: la actividad frente al agente infeccioso).

La farmacocinética nos proporciona información sobre la evolución temporal de un fármaco tras administrado; por ejemplo la concentración máxima, semivida, los niveles séricos y tisulares esperados para un rango de dosis; mientras que la farmacodinamia estudia el efecto que tienen los fármacos una vez alcanzada una determinada concentración. La farmacodinamia está relacionada con el patrón de inactivación bacteriana: tiempo-dependiente o concentración-dependiente.

La actividad de los agentes tiempo-dependientes está definida por el tiempo que su concentración permanece por encima de la CMI ($T > CMI$), mientras que en los agentes concentración-dependientes por la relación entre la concentración máxima (C_{max}) y la CMI (C_{max}/CMI) o entre el área bajo la curva (AUC; por sus siglas en inglés) y la CMI (AUC/CMI).

Para los antibióticos tiempo-dependientes resulta posible optimizar el tiempo sobre la CMI aumentando la frecuencia de administración, mientras que un aumento de la dosis sería inútil en la mayoría de los casos. Por otro lado, aumentando la dosis de los antibióticos concentración-dependientes se consigue un aumento de la C_{max} lo que origina un aumento de los índices de inactivación.

Además, el efecto post-antibiótico (PAE), es decir la inhibición de crecimiento bacteriano persistente tras la exposición a un antibiótico, puede también influir en el curso de la actividad antimicrobiana. El PAE puede variar en función del fármaco y de la bacteria.

En aquellos antibióticos con un PAE muy prolongado, es posible extender el intervalo entre dosis, mientras que aquellos que no tienen PAE requieren una administración más frecuente.



3. Resultados del estudio de eficacia

La eficacia de Ubrolexin® para el tratamiento de las mamitis clínicas en vacas lecheras fue investigada en dos estudios multicéntricos internacionales, realizados siguiendo normas de Buenas Prácticas Clínicas (GCP; por sus siglas en inglés).

En el primer estudio, Ubrolexin® fue comparado con una cefalosporina de 4ª generación (Cefquinoma) administrada 3 veces, a intervalos de 12 horas. En el segundo estudio, Ubrolexin® fue comparado con una cefalosporina de 3ª generación (Cefoperazona) administrada dos veces, a intervalos de 24 horas.

ESTUDIO I			
Especie:	Vacuno lechero	Razas:	Varias
Edad:	2 años o más	Fecha del estudio:	2004–2005
Localización:	Varias granjas de vacuno en el Reino Unido y Francia.		
Procedimiento:	Se incluyeron en el estudio vacas lactantes con mamitis clínica en un solo cuarterón. Las vacas que requerían tratamiento con agentes antiinfecciosos sistémicos o antiinflamatorios no se incluyeron en el estudio. Sí que se permitieron otras medicaciones, según fueran necesarias.		
Tratamiento:	Dosis (por jeringa):	Ubrolexin®	75 mg cefquinoma
	Frecuencia:	2 dosis/cuarterón infectado, intervalo de 24 horas	3 dosis/cuarterón infectado, intervalos de 12 horas

ESTUDIO II			
Especie:	Vacuno lechero	Razas:	Varias
Edad:	2 años o más	Fecha del estudio:	2004–2005
Localización:	Varias granjas de vacuno en el Reino Unido y Alemania.		
Procedimiento:	Se incluyeron en el estudio vacas lactantes con mamitis clínica en un solo cuarterón. Las vacas que requerían tratamiento con agentes antiinfecciosos sistémicos o antiinflamatorios no se incluyeron en el estudio. Sí que se permitieron otras medicaciones, según fueran necesarias.		
Tratamiento:	Dosis (por jeringa):	Ubrolexin®	100 mg cefoperazona
	Frecuencia:	2 dosis/cuarterón infectado, intervalo de 24 horas	2 dosis/cuarterón infectado, intervalo de 24 horas

Para comparar la eficacia de las tres preparaciones intramamarias en el tratamiento de mamitis clínicas en vacuno lechero se llevó a cabo un meta-análisis que combinó los resultados de los dos estudios (Bradley, 2008).

Se obtuvieron suficientes datos para el análisis, provenientes de un total de 491 casos de 192 granjas en 3 países (Inglaterra, Francia y Alemania). Los casos clínicos fueron muy diversos en cuanto a etiología representando tanto patógenos ambientales como contagiosos.

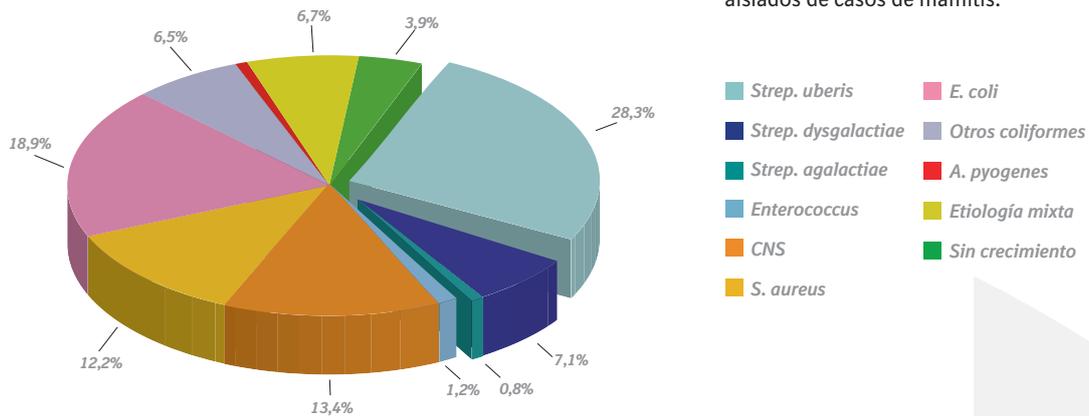


Figura 9. Distribución de los patógenos bacterianos aislados de casos de mamitis.

La curación bacteriológica se consideraba cuando un patógeno determinado no se detectaba en ninguna de las muestras recogidas en el día 16±1 y en el día 25 ±1 tras el tratamiento.

	Ubrolexin®			Cefquinoma			Cefoperazona		
	Nº Infectadas	Nº Curadas	% Curación	Nº Infectadas	Nº Curadas	% Curación	Nº Infectadas	Nº Curadas	% Curación
<i>A. pyogenes</i>	2	2	100	1	1	100	2	2	100
<i>E. coli</i>	45	42	93,3	38	38	100	20	16	80,0
Otros Coliformes	16	10	62,5	12	11	91,7	6	5	83,3
<i>Strep. uberis</i>	70	45	64,3	54	38	70,4	36	24	66,7
<i>Strep. dysgalactiae</i>	29	20	69,0	6	6	100	9	7	77,8
<i>Strep. agalactiae</i>	1	1	100	0	0	-	3	3	100
<i>Enterococcus spp</i>	8	6	75,0	1	0	-	4	1	25,0
<i>S. aureus</i>	38	14	36,8	13	2	15,4	18	6	33,3
CNS	33	17	51,5	24	12	50,0	23	6	26,1

Tabla 4. Vacas libres de patógenos en ambas muestras de leche tras el tratamiento (considerando solamente los gérmenes presentes en el momento del tratamiento).



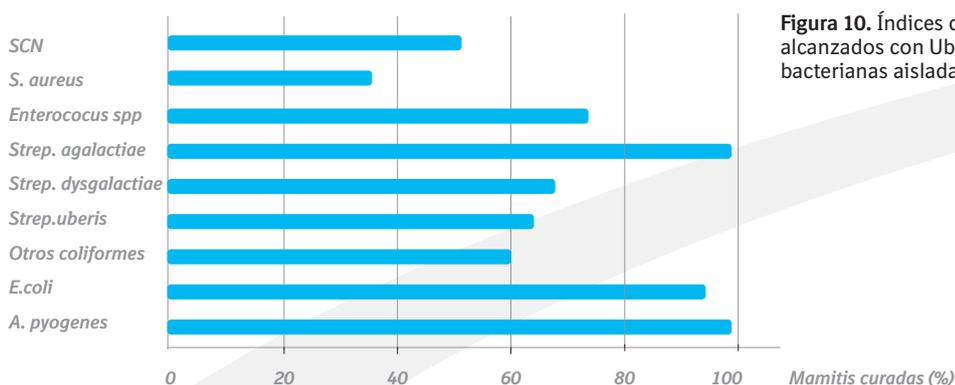


Figura 10. Índices de curación bacteriológica alcanzados con Ubrolexin® sobre las cepas bacterianas aisladas en los estudios de campo.

Además de este índice de curación “aparente” se definió un parámetro de “Ausencia de crecimiento posterior al tratamiento” para determinar aquellos cuarterones que estaban libres de cualquier patógeno (presente o no al inicio del tratamiento) en ambas de las muestras postratamiento.

La probabilidad de que un cuarterón estuviera totalmente “libre de patógenos” postratamiento representa una valoración práctica y efectiva de la eficacia del tratamiento en casos de mastitis clínicas (Bradley, 2008).

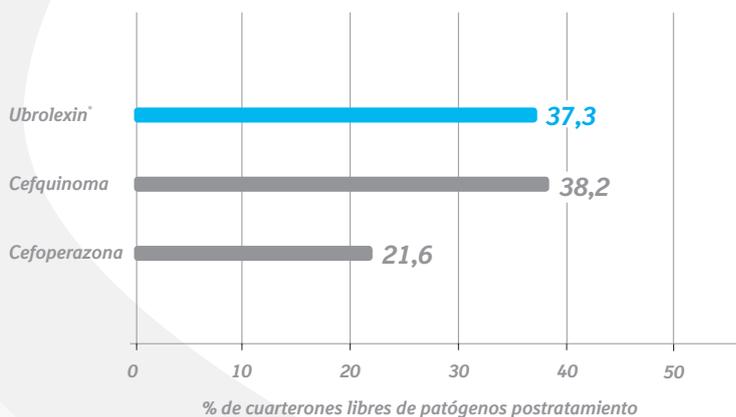


Figura 11. Porcentaje de cuarterones libres de cualquier patógeno de mastitis postratamiento.

El análisis estadístico univariable demostró que los cuarterones tratados con Ubrolexin® o Cefquinoma no presentaban diferencias significativas entre sí, pero que ambos tratamientos intramamarios tenían una probabilidad significativamente mayor de dar lugar a cuarterones libres de patógenos postratamiento que la Cefoperazona (p=0,0021).

Ubrolexin® demostró una eficacia comparable a la de una cefalosporina de 4ª generación y superior a la de una cefalosporina de 3ª generación.

¿El uso racional de antibióticos puede ayudar a controlar las resistencias antibióticas?

El desarrollo de resistencias antimicrobianas es una preocupación creciente tanto en salud animal como humana (Erskine, 2006). El uso racional de antibióticos es por lo tanto, una de las claves para controlar el creciente problema de resistencias antibióticas (Ungemach, 2006).

El objetivo de la terapia antibiótica en mastitis es alcanzar la máxima curación bacteriológica tan rápidamente como sea posible, lo que limita el desarrollo de resistencias. Los antibióticos de amplio espectro son atractivos pero son propensos a ser mal utilizados y su uso ha sido repetidas veces ligado a la aparición de organismos resistentes a los antibióticos.

Con objeto de ser más eficaces y dirigidos hacia infecciones específicas, se requieren teóricamente diferentes agentes antimicrobianos frente a patógenos Gram + y Gram - (Pyörälä, 2002). El uso racional de antibióticos en el tratamiento de mastitis recomienda, por lo tanto, que el agente causante sea identificado antes del inicio de la terapia. Se recomienda llevar a cabo un antibiograma para determinar la sensibilidad del germen y así la terapia antibiótica más adecuada. Con posterioridad debería implementarse el régimen de dosificación más conveniente para asegurar las concentraciones efectivas del fármaco en el lugar de la infección, durante el tiempo suficiente para alcanzar la curación. Sin embargo, el patógeno involucrado en la mastitis clínica casi nunca se conoce en el momento del tratamiento y, por ello, los antibióticos de amplio espectro (intramamarios) resultan casi siempre preferidos.

Sin embargo, es posible escoger regímenes terapéuticos y medicamentos indicados en lugar de aplicar, a menudo sin autorización, fármacos de amplio espectro de una forma más intensiva. Los antibióticos con un espectro de acción selectivo, deberían preferirse a los de amplio espectro, ya que son más eficaces frente a determinadas especies bacterianas.

Las combinaciones de agentes selectivos tienen además ventajas adicionales al disminuir la aparición de mutaciones resistentes. Estudios comparativos indican que la emergencia de resistencias es menos común cuando se utilizan combinaciones antibióticas (Mouton, 1999).

Por supuesto que los fármacos antibacterianos deberían utilizarse de acuerdo a las condiciones de autorización, no permitiendo una menor dosificación o una prolongación del intervalo interdosis. Por último, comentar que debido a que muchos genes de resistencia están unidos, no son recomendables los cambios frecuentes de antibióticos en los rebaños.



4. Resistencias

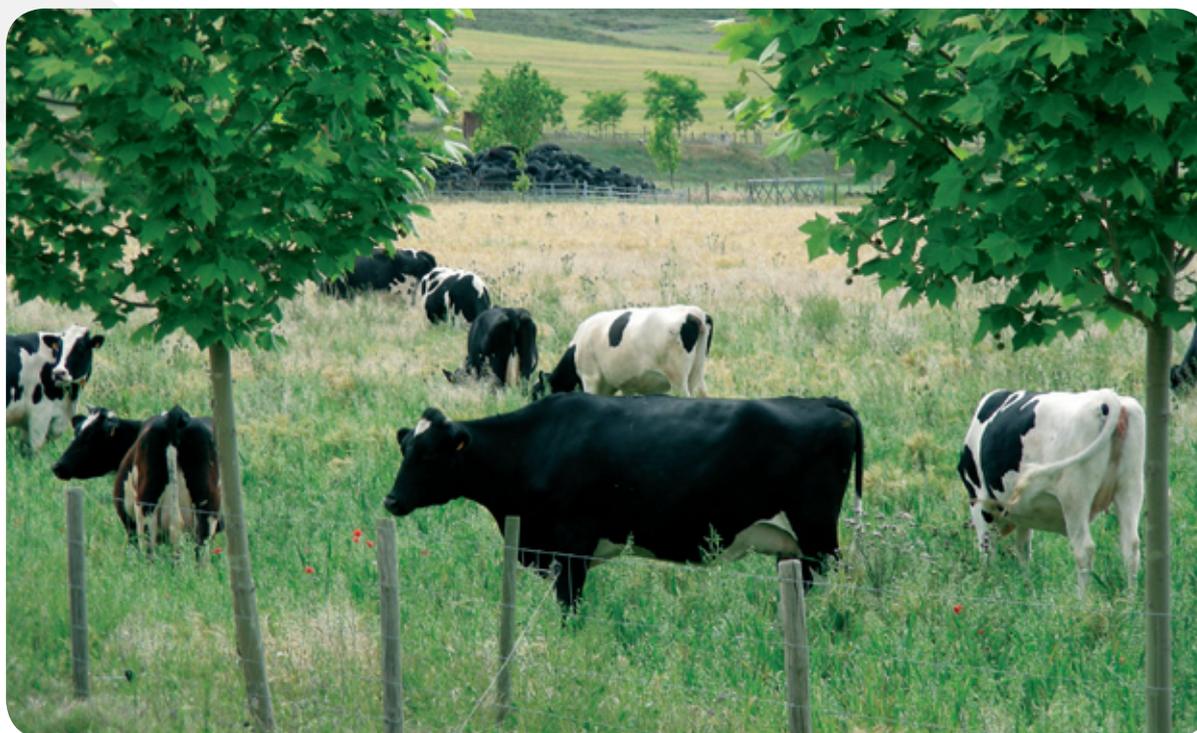
Se realizó una evaluación del riesgo potencial de inducción de resistencias con Ubrolexin®. Esta evaluación se basó en el examen del medicamento, uso propuesto, mecanismo de acción, identificación del mecanismo de resistencia y la resistencia potencial de los patógenos de acuerdo con las pautas actuales.

Paras las bacterias Gram+, *Staphylococcus aureus* y otros *Staphylococcus*, el nivel de resistencia a Cefalexina y Kanamicina notificado en Europa se considera bajo (por debajo del 10%). Cuando Cefalexina y Kanamicina se combinan en Ubrolexin®, la sensibilidad aumenta a un 100%. Los niveles de resistencia notificados para los estreptococos son más variables para ambos antibióticos Cefalexina y Kanamicina individualmente, pero cuando se combinan, la resistencia disminuye por debajo del 10% para *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y 0% para otras especies.

El mecanismo más importante para el desarrollo de resistencia antimicrobiana es la producción de β -lactamasas (frente a las cefalosporinas) y las enzimas específicas mediadas por plásmidos fijadoras de aminoglucósidos en el espacio periplásmico. Afortunadamente estos mecanismos son relativamente poco comunes en medicina veterinaria.

Se postula que combinando dos antibióticos, como cefalosporinas y aminoglucósidos, el desarrollo de resistencias hacia ambos es más lento, debido a que se precisa que por lo menos se produzcan dos mutaciones simultáneas para evitar que ambos antibióticos actúen.

Además, hay que considerar que el índice de resistencia desarrollado y su transferencia, que generalmente es menor y más lenta, especialmente cuando se utiliza para el tratamiento de mamitis, sea incluso más lenta para la combinación de Cefalexina y Kanamicina que para los principios activos por separado, debido al aumento de la actividad bactericida que exhiben cuando se usan de forma combinada.



Referencias

- Bradley A.J. and M.J. Green (2008) An Investigation of Factors Affecting Cure when Treating Clinical Mastitis in Dairy Cattle with Cephalosporin Containing Intramammary Preparations in Proceedings of International Conference Mastitis Control, The Hague, NL.
- Erskine R. (2006) Overview of literature on antimicrobial resistance of mastitis pathogens in Proceedings of the NMC National meeting.
- Friton G. (2005) Minimal inhibitory concentration of selected antibiotics in current bacterial isolates from bovine mastitis milk. BI Vetmedica Study Project no. P04BIVI010.
- Gudmundsson S., H. Erlendottir, M. Gottfredson and A. Gudmundson (1990) The postantibiotic effect induced by antimicrobial combinations. Scand J Infect Dis Suppl. 74:80-93.
- Key J. (2007) Determination of the individual Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) of Cefalexin and Kanamycin against bacterial strains associated with bovine mastitis. BI Vetmedica Study report no. 2006122.
- Mouton J.W. (1999) Combination therapy as a tool to prevent emergence of bacterial resistance. Infection 27 Suppl.2 pp24-28.
- Mueller M., A. de la Peña and H. Derendorf (2004). Issues in pharmacokinetics and pharmacodynamics of anti-infective agents: Kill curves versus MIC. Antimicrobial agents and chemotherapy. Vol.48, No.2.
- Odenholt-Tornquist I., E. Löwdin and O. Cars (1991). Pharmacodynamic effects of subinhibitory concentrations of β -lactam antibiotics in vitro. Antimicrobial agents and chemotherapy. Vol.35, No.9.
- Pyörälä S. (2002) Antimicrobial treatment of mastitis-Choice of the route of treatment in Proceedings of the British Mastitis Conference, Brockworth, UK p20-29.
- Ungemach, (2006) Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine.

Glosario

- Bactericida:** los antibióticos bactericidas pueden matar al 99,9% de una población bacteriana inicial a concentraciones que se pueden alcanzar *in vivo*.
- Bacteriostático:** los antibióticos bacteriostáticos sólo pueden impedir la división bacteriana.
- CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute. Organización internacional que establece los estándares para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana (difusión en disco, dilución en medio de cultivo, CMI, etc).
- CMI:** Concentración mínima inhibitoria; la mínima concentración de antibiótico necesaria para impedir el crecimiento bacteriano, bajo unas condiciones determinadas.
- PAE:** Post Antibiotic Effect. Efecto post-antibiótico; es la capacidad que tienen algunos antibióticos para mantener su actividad antimicrobiana (supresión del crecimiento bacteriano) tras una breve exposición.
- PASME:** Post Antibiotic Sub-MIC Effect. Efecto post-antibiótico sub-CMI; es la duración de la supresión del crecimiento bacteriano para concentraciones de antibiótico inferiores a la CMI, tras una breve exposición a concentraciones suprainhedoras.
- Sinergismo:** describe una interacción positiva entre fármacos. Cuando el efecto combinado de los fármacos estudiados es significativamente superior al esperado, basándonos en el efecto de cada fármaco testado de forma independiente.



