

ARTÍCULOS ORIGINALES

Farmacocinética de cefquinome en terneros por aplicación intramuscular

Carlos A Errecalde¹, MV Esp Cs Clin; Guillermo F Prieto¹, MV Esp Cs Clin; Ignacio Puelles¹ MV; Carlos F Lüders¹, MV MS; Hugo García Ovando¹, MV.

¹Farmacología, Departamento Clínica Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto Ruta Nacional 36, Km 601, (5800) RIO CUARTO, Córdoba, República Argentina*
E-mail cerrecalde@ayv.unrc.edu.ar*

(Recibido: 25 octubre, 2001; aceptado: 6 agosto, 2002)

Resumen

Se determinaron parámetros farmacocinéticos de cefquinome referidos a su absorción, distribución y eliminación, tras la aplicación intramuscular de 1 mg/kg a terneros de 34 ± 25 días de edad. Los niveles plasmáticos se cuantificaron mediante método microbiológico utilizando medio de cultivo Antibiotic N° 1 (Merck) y Providencia alcalifaciens como microorganismo detector y mediante la preparación de nueve diluciones estándares (25 a 0.097 µg/ml). Se confrontaron los diámetros de los halos de inhibición de las muestras versus la dilución estándar, utilizando una curva de calibración obtenida por regresión semilogarítmica (r² = 0.989). El límite de cuantificación del ensayo fue de 0.097 µg/ml. Los datos de concentración de cefquinome en función del tiempo fueron analizados con el software RESID e interpretados por el modelo bicompartimental (r² = 0.9). Los resultados obtenidos son concordantes con el perfil cinético, exhibido por las cefalosporinas en los animales domésticos y lo informado para cefquinome en bovinos adultos e indican que la aplicación intramuscular produce rápida absorción y distribución, generando niveles plasmáticos máximos a las 0.85 ± 0.11 horas post aplicación, mientras que la difusión es restringida y breve la permanencia en el organismo, no obstante se comprobó niveles plasmáticos superiores a los terapéuticos que subsisten durante 6 horas post administración. Según los parámetros, farmacocinéticos obtenidos se estableció una dosis de mantenimiento de 1. 22 mg/kg de peso aplicados cada 24 horas por vía intramuscular.

Palabras clave: bovinos, cefalosporinas, disposición.

Introducción

Cefquinome, es una cefalosporina inyectable de cuarta generación utilizada exclusivamente en Medicina Veterinaria (26) que desarrolla acciones bactericidas interfiriendo síntesis de peptidoglicano de la pared celular tras la interacción con las proteínas fijadoras de penicilinas (PBP_s) (11, 12, 19). El espectro antimicrobiano es semejante a cefepime, cefotaxime y cefpirome, el cual comprende bacterias Gram positivas y negativas, inclusive enterobacterias (7, 13,

15). Químicamente, cefquinome es un cephem que se comporta como zwitterionic, propiedad que favorece el ingreso inmediato a través de membranas bacterianas, inclusive porinas de la pared celular bacteriana (11, 18, 26). La intruducción de un grupo metoximino-aminotiazolil en posición siete de la cadena lateral incrementa la actividad por las PBP_s (11, 12) y extiende el espectro, fundamentalmente sobre bacterias gram negativas (12, 15, 26) en tanto grupos polares incorporados en posición tres intensifican la actividad sobre estreptococos y pseudomonas spp (12, 13, 18).

* Dirección para solicitar reimpresos

El cefquinome es muy tolerante a la inactivación por betalactamasas (6, 13, 15) substancial limitante terapéutica de cefalosporinas de generaciones anteriores (11, 28). Según Rose *et al* (22), la concentración inhibitoria mínima (CIM₉₀) de cefquinome se sitúa en 0.06 y 0.05 µg/ml frente a cepas de *Pasteurella haemolytica* y *Pasteurella multocida*, respectivamente, en cambio *Escherichia coli* demanda 0.13 µg/ml (23, 26) a 0.5 µg/ml (7) y *Staphylococcus aureus* requiere 2 µg/ml (7).

Los antecedentes farmacocinéticos de cefalosporinas indican que tras la aplicación parenteral, la absorción es adecuada y la concentración máxima (C_{max}) a las 0.5-1 horas, volumen de distribución (Vd) limitado al espacio extracelular, vida media biológica (t_{1/2} β) breve y eliminación principalmente urinaria (3, 5, 12). Según Barragry (3), las generaciones recientes de cefalosporinas son más liposolubles, en consecuencia mejoran sus propiedades farmacocinéticas. El cefquinome exhibe escasa afinidad (< 10%) por proteínas plasmáticas (13). En porcinos, terneros y caninos, tras la aplicación parental este antibiótico se absorbe de inmediato generando elevados y sostenidos niveles hemáticos (13), mientras en caprinos éstos exceden la CIM₉₀ de los patógenos pocos susceptibles al menos durante 6 horas post aplicación (9). En terneros y caprinos provee un C_{max} de 4.5 µg/ml (13) y 3.87 ± 1.32 µg/ml (9) a las 2 (13) y 0.54 ± 0.44 h (9), respectivamente. Según Limbert *et al* (13), en todas las especies estudiadas el volumen de distribución al estado estacionario (V_{d ss}) corresponde aproximadamente al 25% del volumen corporal, sin embargo en caprinos el V_{d ss} sólo alcanzó 0.158 ± 0.02 L/kg (9) en tanto el t_{1/2}β oscila en el rango de 0.85-0.96; 1.23-1.32; 1.33 ± 0.41 horas en caninos, porcinos y terneros, respectivamente (13) y 1.76 ± 0.27 horas en caprinos (9). En bovinos, cefquinome se elimina rápidamente en forma activa por orina, recuperándose cerca del 80% de la dosis administrada en el término de 24 horas (2, 13, 25). Los escasos efectos adversos atribuidos a cefquinome (13), sumados a los progresos farmacocinéticos y microbiológicos logrados respecto a cefalosporinas precedentes (2, 25) sugieren su aplicación en bovinos, en presencia de mastitis producida por *E. coli* (26, 27) y particularmente en patologías infecciosas del árbol respiratorio (10, 14, 16) merced a los significativos niveles obtenidos en las secreciones bronquiales (22). Este estudio se realizó con el propósito de determinar parámetros farmacocinéticos de cefquinome en terneros de corta edad, luego de la aplicación intramuscular única de 1 mg/kg y establecer

un ritmo de dosificación adecuado a ésta especie y edad en particular.

Materiales y métodos

Se utilizaron seis terneros machos y hembras clínicamente sanos, raza Holando Argentino seleccionados al azar de una población de 35 animales, con edad promedio de 34 ± 25 días y 43.3 ± 5.1 kg, de peso corporal, sin antecedentes de tratamientos con antimicrobianos, alimentados con sustituto lácteo y sujetos a similares condiciones de manejo. Cada animal recibió una dosis única de 1 mg/kg de una formulación oleosa comercial de cefquinome al 2.5% (Hoechst Roussel Vet, Unierschleißheim) en el músculo semitendioso derecho. Previo a la administración y a las 0.08, 0.16, 0.25, 0.33, 0.41, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 horas se tomaron muestras de sangre en tubos heparinizados de la vena yugular izquierda, las que se centrifugaron durante 10 minutos a 1200 x g y conservaron a - 20 °C hasta su análisis. El antibiótico se determinó en plasma mediante el método microbiológico clásico de difusión en agar, según Benett *et al*. (4) utilizando placas de vidrio de 30 x 40 cm en las cuales se practicaron 64 orificios equidistantes. Las muestras junto a nueve soluciones estándares del antibiótico (25 a 0.097 µg/ml) confeccionadas en plasmas de terneros se refrigeraron a 4 °C durante 60 minutos y luego se cultivaron en estufa a 33 °C durante 12 horas utilizando en cada placa 400 ml de medio de cultivo antibiotic N° 1 (Merck, Darmstad) y *Providencia alcalifaciens* (Mc farland 1) como microorganismo detector. La incorporación de las muestras y las soluciones estándares se realizó por triplicado aplicando 130 µL por orificio.

Las concentraciones plasmáticas de cefquinome en función del tiempo se determinaron confrontando los diámetros de los halos de inhibición de las muestras versus los generados por las soluciones estándares, utilizando una curva de calibración obtenida por regresión semilogarítmica (r² = 0.989), según el procedimiento propuesto por Nouws y Ziv (17). El límite de cuantificación del ensayo fue de 0.097 µg/ml. Los datos originados fueron analizados con el software Resid (20) e interpretados por el modelo Bicopartimental (r² = 0.9), con el propósito de determinar parámetros farmacocinéticos. El cálculo de la dosis de mantenimiento (DM) se realizó según la ecuación propuesta por Ritchel (21):

$$DM = \frac{C_{ss-av} \cdot \tau \cdot Vd}{1.44 \cdot t_{1/2}\beta \cdot f}$$

Considerando los valores obtenidos de $t_{1/2\beta}$, concentración pretendida en estado de equilibrio ($C_{ss} = 0.5 \mu\text{g/ml}$), 24 horas como intervalo de dosificación (τ) y fracción sistémica disponible (f).

Resultados

La figura 1 señala las concentraciones plasmáticas (\pm D.E) conseguidas en función del tiempo. En la tabla 1 se detallan los parámetros farmacocinéticos obtenidos. La aplicación intramuscular de cefquinome en terneros produce rápida absorción ($t_{1/2\text{ab}} = 0.57 \pm 0.06$ horas) y niveles plasmáticos máximos (C_{max}) a las 0.85 ± 0.11 horas post aplicación. La distribución tisular también es rápida ($t_{1/2\alpha} = 0.59 \pm 0.12$ horas), restringida al espacio extracelular según sugiere el $V_{d\text{ss}}$ obtenido (0.187 ± 0.083 L/kg), en tanto los parámetros $t_{1/2\beta}$ (1.56 ± 0.18 horas) y TMR (1.64 ± 0.23 horas) señalan limitada permanencia en el organismo.

Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos promedio (\pm D.E) luego de la administración intramuscular de 1 mg/kg de cefquinome en terneros.

Variable	Promedio \pm D.E
B ($\mu\text{g/ml}$)	12.29 ± 4.73
β (hs^{-1})	0.44857 ± 0.05290
A ($\mu\text{g/ml}$)	13.50 ± 7.58
α (hs^{-1})	1.20977 ± 0.24620
C_0 ($\mu\text{g/ml}$)	25.79 ± 10.83
K_{ab} (h^{-1})	1.174 ± 0.120
K_{12} (h^{-1})	0.18491 ± 0.11647
K_{21} (h^{-1})	0.79223 ± 0.06534
K_{13} (h^{-1})	1.84238 ± 1.0783
$t_{1/2\text{ab}}$ (h)	0.57 ± 0.06
$t_{1/2\beta}$ (h)	1.56 ± 0.18
$t_{1/2\alpha}$ (h)	0.59 ± 0.12
$V_{d\text{ss}}/f$ (L/K)	0.187 ± 0.083
Cl_t/f (ml/min/K)	1.20 ± 0.40
t_{max} (h)	0.85 ± 0.118
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	3.19 ± 1.68
ABC ($\mu\text{g/ml/h}$)	14.78 ± 4.70
ABC (h)	1.64 ± 0.23

A: intercepto de la curva de distribución; α : pendiente de la curva de distribución; B: intercepto de la curva de eliminación; β : pendiente de la curva de eliminación; $t_{1/2\text{ab}}$: vida media de absorción; $t_{1/2\beta}$: vida media de eliminación; $t_{1/2\alpha}$: tiempo medio de distribución; C_0 : concentración inicial a tiempo cero; $V_{d\text{ss}}$: volumen de distribución en estado estacionario; Cl_t/f : clearance total; C_{max} : tiempo en que se alcanza la C_{max} ; K_{ab} : constante de absorción; K_{12} : constante de pasaje del compartimento central al periférico; K_{21} : constante de pasaje del compartimento periférico al central; K_{13} : constante eliminación; ABC: área bajo la curva; TMR: tiempo de residencia; f: fracción disponible.

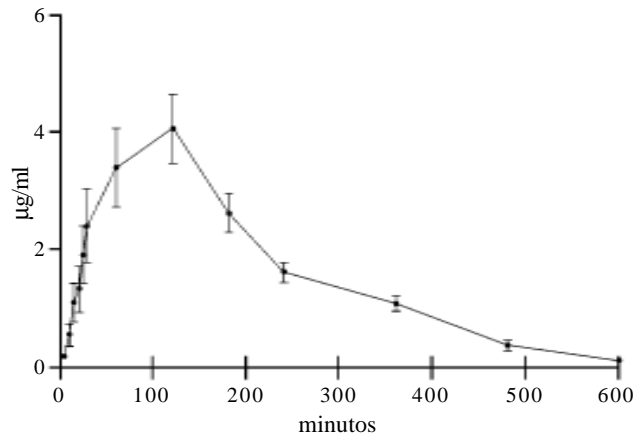


Figura 1. Concentración plasmática promedio (\pm D.E.) de cefquinome en función del tiempo.

Discusión

El método microbiológico implementado resultó adecuado para la determinación de las concentraciones plasmáticas de cefquinome en terneros en función del tiempo. Inicialmente elevados, los niveles plasmáticos superaron ampliamente la CIM_{90} requerida por los patógenos respiratorios más exigentes durante las primeras 6 horas post aplicación, similar a lo que acontece en caprinos (9) y fueron detectados hasta 10 horas luego de la aplicación única. La aplicación intramuscular, determinó rápida absorción ($t_{1/2\text{ab}} = 0.59 \pm 0.06$ horas) en coincidencia con lo informado en bovinos por Limbert *et al* (13) aunque un tanto irregular conforme a la formulación oleosa utilizada. El C_{max} ($3.19 \pm 1.68 \mu\text{g/ml}$) observando rápidamente ($t_{\text{max}} = 0.85 \pm 0.11$ horas) fue inferior a los logrados con dosis similares en caprinos (9) y en terneros (13), aplicando dosis sustancialmente más elevadas, aunque la relación C_{max}/CIM_{90} obtenida es favorable (8,24), tratándose de un antibiótico bactericida. Similar a lo informado en terneros, caninos y porcinos (13), la distribución del antibiótico desde el compartimiento central fue rápida ($t_{1/2\alpha} = 0.59 \pm 0.12$ horas) posiblemente debido a la limitada unión a proteínas plasmáticas (1, 13) en tanto que la difusión tisular fue restringida, acorde a la naturaleza hidrofílica de la molécula (3, 5, 19), según sugiere el reducido $V_{d\text{ss}}/f$ conseguido (0.187 ± 0.083 L/kg), ligeramente mayor del encontrado en caprinos (9) e inferior a lo estimado en porcinos, caninos y terneros (13). En coincidencia con los antecedentes disponibles en bovinos (2, 13, 25,) cefquinome exhibe un $t_{1/2\beta}$ de 1.56 ± 0.18 horas indicando limitada permanencia en el plasma, reflejado también en el TMR obtenido (1.64 ± 0.23 horas). Asumiendo la eliminación prácticamente

completa del antibiótico por orina (2, 13, 25) y la inmadurez renal de animales muy jóvenes (1, 19), los parámetros farmacocinéticos no fueron influenciados por la edad de los terneros, puesto que son semejantes a los registrados en caninos, porcinos y terneros de mayor edad (13) y corresponden con el perfil cinético exhibido por los antibióticos betalactámicos (3, 5, 13).

Las características farmacocinéticas-farmacodinámicas hacen de cefquinome una herramienta terapéutica eficaz en terneros de corta edad y según los resultados obtenidos, estimando la fracción sistémica disponible en 90%, se estableció la aplicación de una dosis de mantenimiento de 1.22 mg/kg cada 24 horas por vía intramuscular.

Agradecimientos

Al laboratorio Intervet de Argentina, por la provisión del medicamento y el apoyo recibido.

Summary

Cefquinome pharmacokinetics in calves by intramuscular administration

Pharmacokinetic parameters of cefquinome referred to their absorption and elimination, were determined after a single intramuscular dose 1 mg/kg to calves 34 ± 25 days old. The plasmatic levels were quantified by microbiological assay in agar Antibiotic N° 1 (Merck) using Providencia alcalifaciens as test microorganism by means of the preparation of nine standard dilutions (25 at 0.097 µg/ml). The diameters of inhibition zones of the samples were confronted versus the standard dilution, using a calibration curve obtained by semilogarithmic regression (r²= 0.989). The quantification limit was of 0.097 (µg/ml). The data of cefquinome concentration in function of the time were analyzed with the software RESID and interpreted as a bicompartimental model (r²= 0.9). The obtained results are concordant with the kinetic profile exhibited by cephalosporins in domestic animals and that informed for cefquinome in bovine adults and they indicate that the intramuscular application produces quick absorption and distribution, generating maximum plasmatic levels at 0.85 ± 0.11 hours post application, while the diffusion is restricted and brief the permanency in the organism, nevertheless superior plasmatic levels to the therapeutic ones was proven, that subsist during 6 hours post administration. According to the pharmacokinetic parameters obtained, a dose of maintenance of 1.22 mg/kg was settled down every 24 hours.

Key words: *bovines, cephalosporins, disposition.*

Referencias

1. Baggott JD. Principles of drug disposition in domestic animals: The basis of veterinary clinical pharmacology. Ed. Saunders, Philadelphia, 1977. 236p.
2. Barker SA, Kappel LC, Short CR. Tissue distribution and clearance of the cephalosporin cefquinome in the bovine. Proc. 18th World Buiatrics Congress, Bologne, Italy; 1994, 543-546.
3. Barragry TB. Veterinary Drug Therapy. Lea Febiger, Philadelphia, 1994. 1076p.
4. Bennett J, Brodie J, Brenner E, Kirby W. Simplified accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. Appl. Microbiol., 1966; 14 (2): 170-177.
5. Bergan T. Pharmacokinetics properties of the cephalosporins. Drugs, 1987; 34 (Suppl. 2): 89-104
6. Bötther A, Schmid P, Humke R. *In vitro* efficacy of cefquinome (INN) and other antinfectives drugs against bovine bacterial isolates from Belgium, France, Germany, The Netherlands and the United Kingdom. Zentralbl Veterinarmed (B), 1995; 42: 377-383.
7. Chin NX, Gu JW, Fang W, Neu H. *In vitro* activity of cefquinome, a new cephalosporins compared with other antibiotics. Diag. Microbiol. Infec. Dis., 1992; 15 (4): 331-337.
8. Drusano GL, Craig WA. Relevance of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the selection for respiratory tract infections. J. Chemother, 1997; 9 (Suppl. 3): 38-44.
9. Errecalde C, Prieto G, Puelles I, Lüders C, García Ovando H. Disposición plasmática de cefquinome en caprinos por aplicación intramuscular. Proc. 21th World Buiatrics Congress, Punta del Este, Uruguay, 2000. 161 p.
10. Gibbs HA. The use of cefquinome in the treatment of respiratory disease in cattle. Proc. 18th World Buiatrics Congress, Bologne, Italy, 1994; 535-538.

11. Klein NC, Cunha BA. The selection and use of cephalosporins: a review. *Advances in Therapy*, 1995; 12(2): 83-101
12. Lancini G, Parenti F, Gallo G. *Antibiotics. A Multidisciplinary Approach*. Plenum Press. New York, 1995. 277p.
13. Limbert M *et al.* Antibacterial activities *in vitro* and *in vivo* and pharmacokinetics of cefquinome (HR-111V) a new broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob Agents Chemother*, 1991; 35(1): 14-19.
14. Möller T, Hofmann W. Treatment of respiratory diseases in calves with the cephalosporin cefquinome. *Praktische Tierarzt*, 1997; 78(1): 54-58.
15. Murphy SP, Erwin ME, Jones RN. Cefquinome (HR 111 V). *In vitro* evaluation of a broad-spectrum cephalosporin indicated for infections in animals. *Diagn. Microbiol Infect. Dis*, 1994~ 20(1): 49-55.
16. Navetat H, Griers P, Lancar P, Espinasse J. Efficacité de la cefquinome dans le traitement des bronchopneumonies infectieuses enzootiques des jeunes bovins élevés en lots. *Bull GTV*, 1996; 1: 21-25.
17. Nouws JFM, Ziv G. The effect of storage at 4 °C on antibiotic residues in kidney and meat tissues of dairy cows. *Tijdschr Diegeneesk*, 1976; 101(20): 119-127.
18. Pechère JC, Wilson W, Neu H. Laboratory assessment of antibacterial activity of zwitterionic 7-metoxymino cephalosporins. *J. Antimicrob. Chemother*, 1995; 36: 757-771.
19. Rang UP, Dale MM, Ritter JM. *Farmacología*. Harcourt, Madrid, 2000. 885p.
20. Ritschel WA. RESID: A curve-fitting program to generate pharmacokinetic parameters. *International Symposium on Clinical Pharmacokinetics*. Salzgitteer-Ringelheim, 1975 ; July 20-21
21. Ritschel WA. Kinetic model and dosage regime. *Clinical Pharmacology and pregnancy*. Eds. Kuammerle H. & Brenkel P. MTP Press, Ames, 1984.
22. Rose M, Schmid P, Böttner A. Application of cefquinome in cattle. Concentrations vs time in bronchial secretions and *in vitro* activity against *Pasteurella Spp*, *Tierärztl. Umschau*, 1996; 51(12): 760-765.
23. Schmid P, Böttner A, Humke R, Trenti F. *In vitro* testing of bacterial field strains from bovine origin sensitivity of cefquinome. *Proc. 18th World Buiatrics Congress*, Bologne, Italy, 1994, 539-541.
24. Shojace Alliabadi P, Lees P. Pharmacodynamics and pharmacokinetics inter-relationships of antibacterial drugs. *J. Vet Pharmacol. Therap.*; 1997; 20 (Suppl. 1): 14-16.
25. Short CR, Barker SA, Kappel LC, Caprile K, Cummings LE. Residue depletion profile for cefquinome in beef and dairy cattle. *Proc 5th EAVPT Congress*, Copenhagen, Denmark; 1991; 434-435.
26. Shpigel NY, Levin D, Winler M *et al.* Efficacy of cefquinome for treatment of cows with mastitis experimentally induced using *Eschericia coli*. *J. Dairy Sci*, 1997; 80: 318-323.
27. Shpigel NY, Schmid P. Contribution to the treatment of acute bovine mastitis with cefquinome. *Tierärztl Prax*, 1997; 25(3): 200-206.
28. Wilson WR. The role of fourth-generation cephalosporins in the treatment of serious infectious diseases in hospitalized patients. *Diag Microbiol & Infect Dis*, 1998; 31(3): 473-477.