

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DE LA MEZCLA JOSAMICINA-TRIMETOPRIM

Sumano L.H.  
Ortiz L. L.  
Hevia del P.C.

Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 04510.

**Introducción:**

La josamicina se usa comúnmente en Europa para reducir la incidencia de lesiones de aerosaculitis debida a *Mycoplasma* sp., ya sea sola o combinada con inmunostimulantes (1, 4) o con trimetoprim (5). Se considera también que posee buena actividad contra *Pasteurella multocida* de cerdos, comparable en actividad *in vitro* a: algunos aminoglicosidos, tetraciclinas, eritromicina, tiamfenicol, colistina, rifampina y mupirocina (2). Se demostró que una sola aplicación logra concentraciones pulmonares por 72 h y desaparece del organismo en 96 horas después de la aplicación de varias dosis (6). Su penetración tisular es muy eficiente y aparentemente superior a la de la eritromicina y tilosina, si se considera que estos dos últimos macrólidos no penetran a la yema del huevo (7). Por otro lado, se sabe que los antibióticos pueden interactuar con el sistema inmune en funciones como la fagocitosis, la destrucción bacteriana, la quimiotaxis, la proliferación de linfocitos, la producción de citocinas, de anticuerpos, etc (8). La literatura coincide en que existen antimicrobianos con elevada capacidad inmunostimuladora como el imipenem, la cefodizima y la clindamicina, mientras que se reconoce un efecto depresor de la respuesta inmune de la eritromicina, la roxitromicina, la cefotaxima, la tetraciclina, la rifampicina, la gentamicina, la teicoplanina y la ampicilina (8). En este sentido se ha descrito a la josamicina como un antimicrobiano con características peculiares ya que se ha demostrado que *in vitro* aumenta la capacidad fagocitaria y de destrucción de macrófagos alveolares (10) y que fomenta el ingreso de algunos medicamentos a células cancerígenas y quizá de otro origen (9). Así pues, dadas las experiencias de campo en México y en otras partes del mundo con la josamicina y con la mezcla de josamicina trimetoprim, se decidió realizar pruebas de laboratorio (concentraciones mínimas inhibitorias e isobologramas), a fin de evaluar si existe efecto complementario de esta mezcla (potenciación, adición o sinergismo), sobre todo porque existen pocos datos de efecto complementario entre macrólidos y trimetoprim.

**Material y Métodos**

**Microplaca e isoblograma.** Se expusieron los microorganismos problema (para esta mezcla se utilizaron *Mycoplasma gallisepticum*, *E. coli* y *Pasteurella spp.*, *Salmonella pullorum*, *Staphylococcus aureus*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Haemophilus gallinarum* a diluciones seriadas de los dos antimicrobianos para que se probaran todas las posibles combinaciones dentro de rangos que habitualmente se consideran estándar *in vitro*. Se interpretaron los resultados como sigue: 1) Efecto sinérgico: cuando por lo menos 1/4 de CMI del fármaco A + 1/4 de CMI del fármaco B inhiben el crecimiento. 2) Parcialmente sinérgico, cuando se requiere 1/4 de CMI de A y 1/2 de CMI de B para inhibir crecimiento. 3) Aditivo. Cuando se requiere la 1/2 de CMI de A y la 1/2 de CMI de B para la inhibición del crecimiento. Evidentemente valores superiores a éstos indican alguna forma de antagonismo. Los resultados anteriores se incorporaron en un isoblograma. Si el resultado es una línea concava, la mezcla es sinérgica, una línea recta indica indiferencia y una convexa indica antagonismo. Adicionalmente se calculó la concentración inhibitoria fraccional con la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{CMI de A en combinación}}{\text{CMI de A solo}} + \frac{\text{CMI de B en combinación}}{\text{CMI de B solo}} = \text{CIF A} + \text{CIF B} = \Sigma \text{CIF}$$

El recíproco del índice CIF se le llama factor de sinergia. Cuando CIF es  $\leq 0.5$ , la combinación es sinérgica y cuando es  $\geq 2.0$  la combinación es antagonica. Si son intermedios el valor es intermedio.

**Resultados y Discusión**

En la figura 1 se presentan los isobologramas de 7 pruebas (5 replicas por prueba) con bacterias Gram negativas y Gram positivas, indicando sinergia para las primeras no-actividad para las segundas. El recíproco del CIF fué en promedio de 0.1 para la mezcla en los casos en los que hubo actividad sinérgica y mayor a 4 en los casos en los que no hubo actividad. En la figura 1 también se presentan los efectos de esta mezcla sobre los *Mycoplasma* sp. La observación de las curvas indica claramente un efecto sinérgico en contra de: *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* y *Haemophilus gallinarum*. Ausencia de actividad antibacteriana contra *Salmonella sp.*, *Pseudomona aeruginosa*. En lo que respecta a *Mycoplasmas*, se detectó un moderado efecto complementario o en el peor de los casos indiferencia (es decir no se aumentó el efecto de la josamicina) contra *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma*

*pleuropneumoniae*. Se detectó un efecto sinérgico contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*, aunque el efecto se detectó a concentraciones de 4.8 µg/ml de josamicina y 2.5 de trimetoprim.

Es importante destacar que uno de los errores más comunes del médico es creer que una combinación puede ser sinérgica contra una gran cantidad de microorganismos. La descripción de la sinergia debe acompañarse siempre del o las bacterias sensibles. Así, cuando se habla de la sinergia de carbenicilina con gentamicina, se refiere a la *Pseudomona sp.* y *Proteus sp.*, y solamente *in vivo* pues *in vitro* son antagonistas químicos (11). En el caso de la josamicina con trimetoprim, se debe aclarar que existen bacterias resistentes, altamente sensibles y tan sensibles como o sin trimetoprim. De cualquiera manera, es importante señalar que en esta mezcla se tiene la posibilidad terapéutica del control de los *Mycoplasmas* y de otras bacterias de asociación como la *Pasteurella sp.*, la *Escherichia coli*, los *Streptococcus sp.* y el *Haemophilus sp.* Adicionalmente, es importante puntualizar que las evidencias indican que la josamicina puede actuar como inmunostimulante.

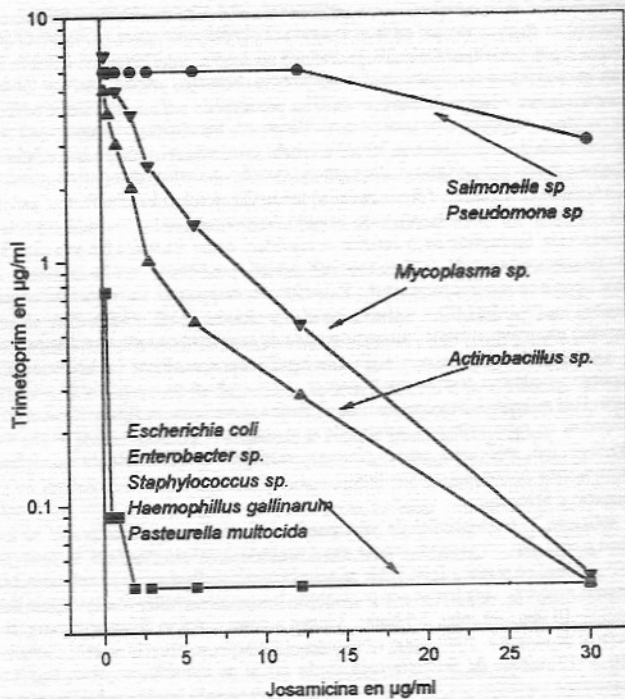


Figura 1. Isobologramas de diversas bacterias ante la combinación de josamicina/trimetoprim (1.8:1). Las línea superior indica ausencia de actividad, las intermedias una acción de complementaria a indiferente y las inferiores sinergismo.

**Literatura citada:**

1. Hanafy-MSM; Abdel-Rahman-FI; Soliman-GA; Ahmed-AR; Afify-N; Ahmed-SE.: Studies on the efficacy of combined immunostimulant-antibiotic therapy against experimental *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 1995, 102: 10, 408-409.
2. Gutierrez-Martin, C.B., Rodriguez-Ferri, E.F.: In vitro susceptibility of *Pasteurella multocida* subspecies *multocida* strains isolated from swine to 42 antimicrobial agents. Zentralblatt für Bakteriologie. 1993, 279: 3, 387-393
3. Leroy-P; Decofin-D; Nicolas-A; Archimbault-P. Determination of josamycin residues in porcine tissues using high-performance liquid chromatography with pre-column derivatization and spectrofluorimetric detection. Analyst. 1994, 119: 12, 2743-2747.
4. Ueda-Y; Ohtsuki S; Narukawa N; Takeda K.: Effect of terdecamycin on experimentally induced *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs. Journal of Veterinary Medicine. Series B. 1994, 41: 4, 283-290.
5. El Sayed, M.G.A., El Aziz, M.I.A. and El Azem-A.M.A.: Blood and tissue concentrations of trimethoprim following its administration alone and in combination with josamycin. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 1992, 99: 4, 154-156.
6. El Sayed, M.G.A., Abd El-Aziz, M.I. and Abd El-Azem, A.M.: Pharmacokinetics and tissue residues of Josamycin in fowls. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 1992, 99: 3, 113-116.
7. Roudaut, B. and Moretain, J.P.: Residues of macrolide antibiotics in eggs following medication of laying hens. British Poultry Science. 1990, 31: 3, 661-675.
8. Van-Vlem-B; Vanholder-R; De-Paepe-P; Vogelaers-D; Ringoir-S.: Immunomodulating effects of antibiotics: literature review. Infection. 1996 Jul-Aug; 24(4): 275-91.
9. Crosta-I.; Candiloro-V.; Meli-M.; Tolomeo-M.; Rausa-L.; Disonchet-L.: Lacidipine and josamycin: two new multidrug resistance modulators. Anticancer-Res; VOL 14, ISS 6B. 1994, P2685-9.
10. Sumano, L.H. y Ocampo, C.L.: Efecto de la josamicina sobre la actividad de macrófagos alveolares del cerdo. Acontecer Porcino. 1997, 12 (4): 12-15
11. Sumano, L.H. y Ocampo, C.L.: Farmacología Veterinaria. McGraw Hill/Interamericana, México D.F., 1987.