

CENNI DI FARMACOLOGIA DEGLI ANTIBIOTICI: I FENICOLI

GIOVANNI RE

DVM, PhD, Dip.ECVPT

Dipartimento di Patologia Animale

Sezione di Farmacologia & Tossicologia

Università degli Studi di Torino

Presidente Ordine Medici Veterinari AL



Mantova 22 giugno 2012

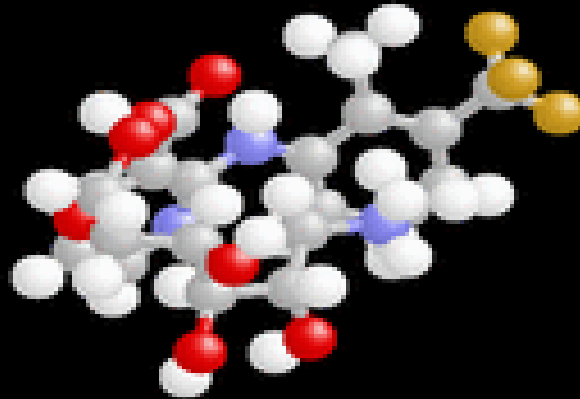


**NUOVE CLASSI
DI
CHEMIOANTIBIOTICI ?**



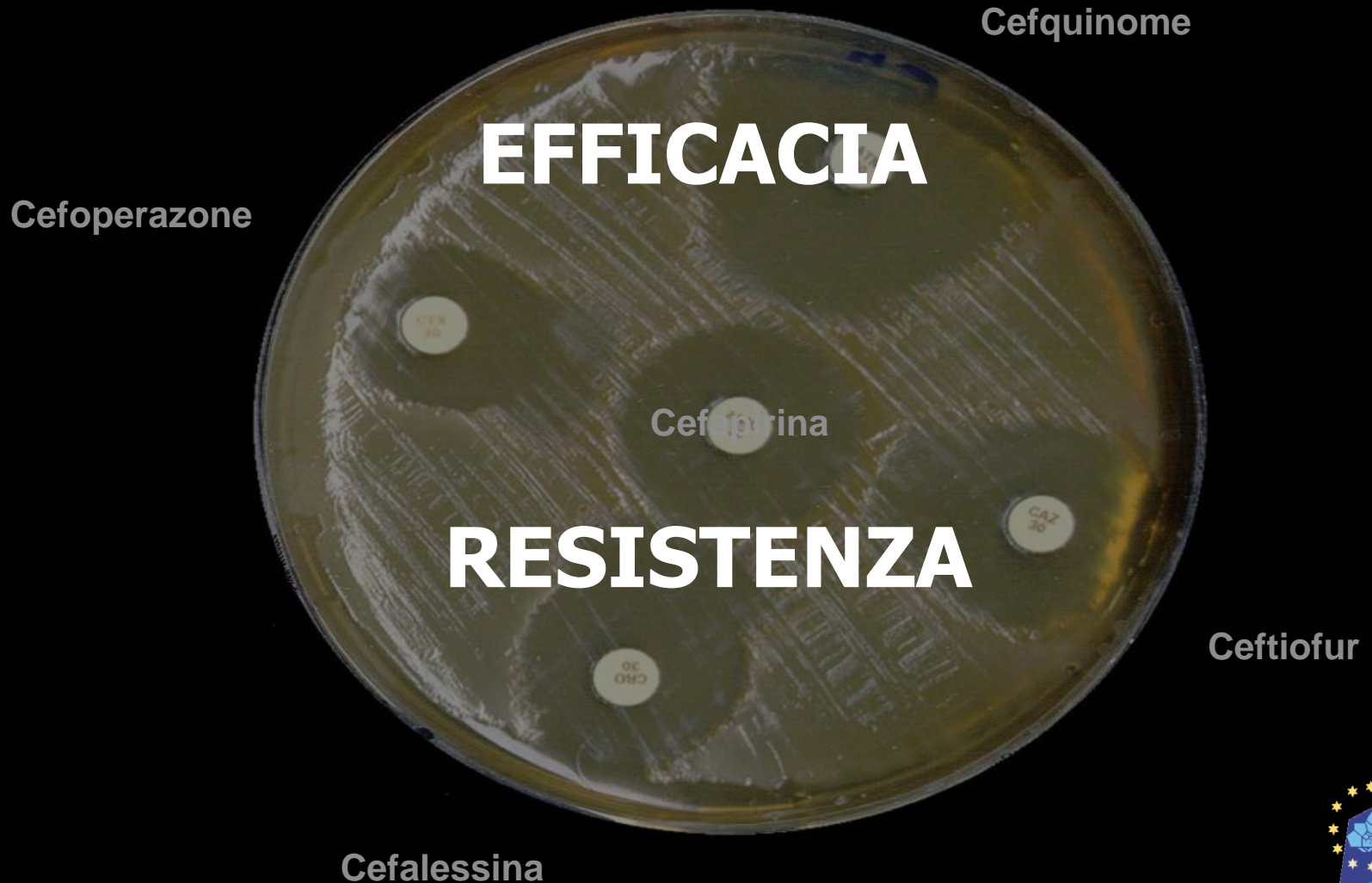
ECVPT

**ESISTONO MOLECOLE
A SOLO USO
VETERINARIO**



**MA APPARTENGONO
A CLASSI DI FARMACI
AD USO UMANO**

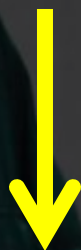
CHEMIOTERAPIA ANTIBIOTICA



ECVPT

CHEMIOTERAPIA ANTIBIOTICA

COSA VIENE RICHIESTO AL VETERINARIO?



USO RAZIONALE DEI CHEMIOANTIBIOTICI



ECVPT

USO RAZIONALE DEI CHEMIOANTIBIOTICI:

-DIAGNOSI CORRETTA

-SPETTRO RISTRETTO E MIRATO

-ANTIBIOGRAMMA (ISOLAMENTO)

-PK-PD NOTE

-RISPETTO INDICAZIONI E POSOLOGIA



ECVPT

**NON LO METTO NEPPURE IN DISCUSSIONE:
E' COMPITO E COMPETENZA DEL VETERINARIO
USERA' ESPERIENZA, CONOSCENZE
CRITERI CLINICI E/O DIAGNOSTICI....**



ECVPT

USO RAZIONALE DEI CHEMIOANTIBIOTICI:

-DIAGNOSI CORRETTA

-SPETTRO RISTRETTO E MIRATO

-ANTIBIOGRAMMA (ISOLAMENTO)

-PK-PD NOTE

-RISPETTO INDICAZIONI E POSOLOGIA



ECVPT



**SAPPIAMO VERO QUALI SONO
I CHEMIOANTIBIOTICI
A SPETTRO RISTRETTO?**

**E MIRATI PER LA NOSTRA
PATOLOGIA/SINDROME?**

MALATTIA RESPIRATORIA DEL BOVINO

USO RAZIONALE DEI CHEMIOANTIBIOTICI:

-DIAGNOSI CORRETTA

-SPETTRO RISTRETTO E MIRATO

-ANTIBIOGRAMMA (ISOLAMENTO)

-PK-PD NOTE

-RISPETTO INDICAZIONI E POSOLOGIA



ANTIBIOGRAMMA

Germe: *Staphylococcus spp*

PENIC	R
AMOXI	S
AMOXI+CLAV	R
AMPI	R
CLOXA	R
OXACIL	S
CEFALEX	R
CEFALOT	R
CEFOPER	S
CEFUROX	R
ENROFLOX	S
NEOMIC	S
STREPTO	S
SPIRA	R
TETRA	S
TIAMF	S

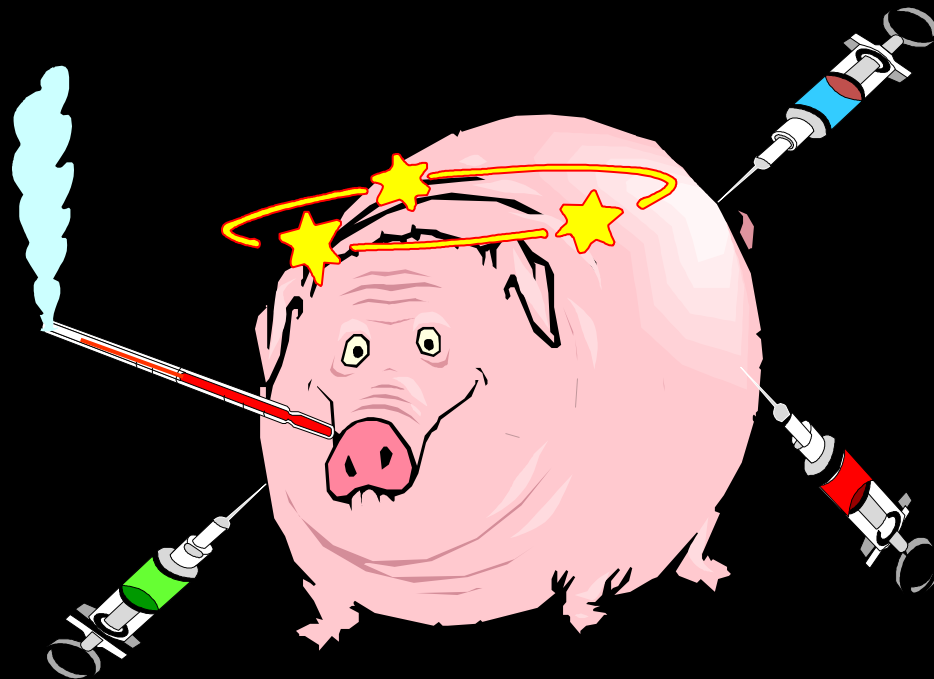
Germe: *Staphylococcus spp*

PENIC	R
AMOXI	R
AMOXI+CLAV	R
AMPI	R
CLOXA	R
OXACIL	S
CEFALEX	S
CEFALOT	R
CEFOPER	S
CEFUROX	R
ENROFLOX	S
NEOMIC	S
STREPTO	S
SPIRA	R
TETRA	R
TIAMF	R



USO RAZIONALE DEI CHEMIOANTIBIOTICI:

ASSOCIAZIONE DI 2 O PIU'
PRINCIPI ATTIVI?



MALATTIA RESPIRATORIA DEL BOVINO

USO RAZIONALE DEI CHEMIOANTIBIOTICI:

-DIAGNOSI CORRETTA

-SPETTRO RISTRETTO E MIRATO

-ANTIBIOGRAMMA (ISOLAMENTO)

-PK-PD NOTE

-RISPETTO INDICAZIONI E POSOLOGIA



TERAPIA ANTIMICROBICA



ECVPT

QUANDO L'ANTIBIOTICO E' ACQUA FRESCA?

1) QUANDO E' SOTTODOSATO

DOSE INFERIORE
A QUELLA
EFFICACE
(MIC-50; MIC-90)

MANCATO
RISPETTO
INTERVALLI
DOSE-DOSE

TERAPIA ANTIMICROBICA



QUANDO L'ANTIBIOTICO E' ACQUA FRESCA?

1) QUANDO E' SOTTODOSATO

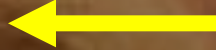
INOLTRE SELEZIONA



GERMI + SENSIBILI



PUO' AGGRAVARE



SPESSE NON PATOGENI

TERAPIA ANTIMICROBICA



**QUANDO L'ANTIBIOTICO
E' ACQUA FRESCA?**

2) QUANDO E' SOVRADOSATO



TERAPIA ANTIMICROBICA



QUANDO L'ANTIBIOTICO E' ACQUA FRESCA?

2) QUANDO E' SOVRADOSATO



**SI PUO' FARE SOLO CON
DETERMINATI ANTIBIOTICI
IN DETERMINATE CONDIZIONI
(concentrazione-dipendenti)**

TERAPIA ANTIMICROBICA



ECVPT

QUANDO L'ANTIBIOTICO E' ACQUA FRESCA?

3) QUANDO NON SI RISPETTANO GLI INTERVALLI TRA LE DOSI



SIA IN UN SENSO (troppo vicine) SIA NELL'ALTRO (troppo lontane)

USO RAZIONALE DEI CHEMIOANTIBIOTICI:

-DIAGNOSI CORRETTA

-SPETTRO RISTRETTO E MIRATO

-ANTIBIOGRAMMA (ISOLAMENTO)

-PK-PD NOTE

-RISPETTO INDICAZIONI E POSOLOGIA



USO RAZIONALE DEI CHEMIOANTIBIOTICI:

PK-PD NOTE ?



ECVPT

TERAPIA ANTIMICROBICA

QUALE ANTIBIOTICO UTILIZZARE?

- 1) CRITERI CLINICI (primo e più comune approccio)
- 2) CRITERI MICROBIOLOGICI (indicazione da isolamento e antibiogramma)

QUALI VARIABILI INTERVENGONO?

1) FARMACOCINETICHE

2) FARMACODINAMICHE



CRITERI FARMACOLOGICI

TERAPIA ANTIMICROBICA

**I CRITERI FARMACOLOGICI TENGONO
IN CONSIDERAZIONE:**

- 1) LA CAPACITA' DEL FARMACO DI RAGGIUNGERE
E PENETRARE *IN VIVO* IL TESSUTO SEDE DEL
PROCESSO INFIAMMATORIO CAUSATO DALLA
INFEZIONE (farmacocinetica)**
- 2) LE MODALITA' ATTRAVERSO CUI IL FARMACO
INIBISCE LA REPLICAZIONE BATTERICA
(batteriostatico) O UCCIDE IL MICRORGANISMO
(battericida) (farmacodinamica)**



TERAPIA ANTIMICROBICA

**RISULTA DI FONDAMENTALE IMPORTANZA
CORRELARE L'AZIONE DEL FARMACO SUI
BATTERI → EFFICACIA
CON LA SUA CAPACITA' DI MUOVERSI
NELL'ORGANISMO ANIMALE (PK/PD)**

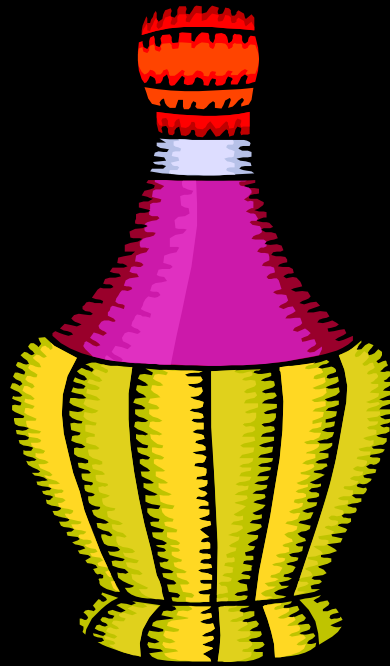
PARADOSSO FARMACOLOGICO:

- 1) FARMACO POCO EFFICACE CHE RAGGIUNGE
E PENETRA FACILMENTE IL TESSUTO**
- 2) FARMACO ALTAMENTE EFFICACE CHE NON
RIESCE A RAGGIUNGERE O PENETRARE IL
TESSUTO**



TERAPIA ANTIMICROBICA

IN ENTRAMBI I CASI IL RISULTATO PUO' ESSERE:



TERAPEUTICO



ECVPT

TERAPIA ANTIMICROBICA

SONO TALI PROPRIETA' FARMACOLOGICHE CHE SPESSO VANNO AD INTERFERIRE CON I CRITERI CLINICI E/O MICROBIOLOGICI FACENDO SI CHE SI OTTENGANO NELLA PRATICA UNA RISPOSTA CHE PUO' ESSERE DIVERSA DA QUELLA ATTESA

**OLTRE AL FIASCO TERAPEUTICO IN QUESTO CASO POSSIAMO ANCHE INCORRERE IN PERICOLOSE PRESSIONI SUI MICRORGANISMI
→ INDUZIONE/SELEZIONE DI FENOMENI DI RESISTENZA**



EFFICACIA SUI MICROORGANISMI

SENSIBILITA' MICROBICA: effettuata con metodo di diluizioni seriali in terreni liquidi o solidi insemenzati con il microorganismo da saggiare.

La diluizione maggiore alla quale il farmaco inibisce la crescita del microorganismo dopo 18-24 h di incubazione a 37 C

→ Concentrazione Minima Inibente (MIC)

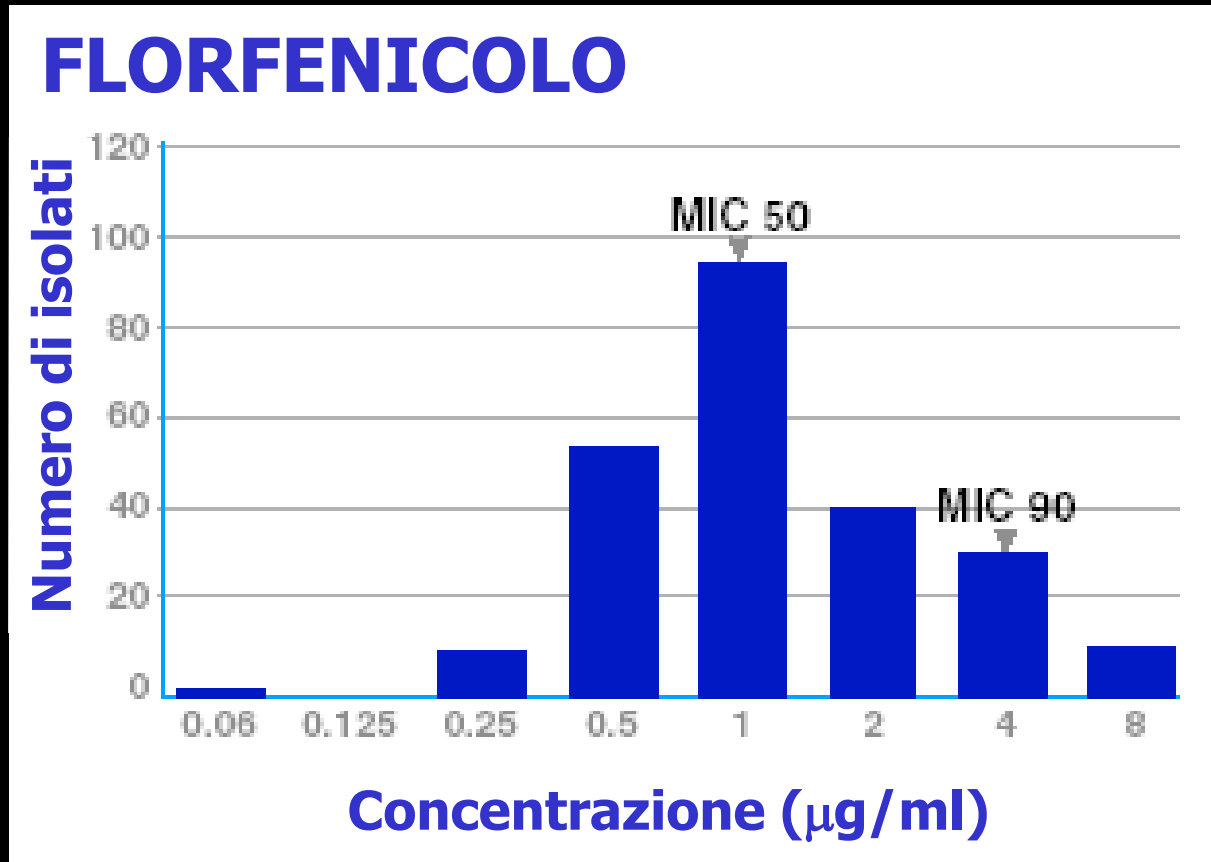
PER LO STESSO ANTIBIOTICO DIPENDE DAL M.O.

MIC₅₀ = diluizione alla quale il farmaco inibisce la crescita del 50% dei microrganismi.

MIC₉₀ = diluizione alla quale il farmaco inibisce la crescita del 90% dei microrganismi.

Si definisce come Concentrazione Minima Battericida (MBC) la più bassa concentrazione di antibiotico in grado di ridurre del 99.9% la popolazione batterica iniziale dopo 24 h di incubazione a 37 C .

TERAPIA ANTIMICROBICA



Concentrazione Minima Inibitoria (MIC) di 223 isolati di *Mycoplasma Spp.*

	<i>RANGE</i>	<i>MEDIANA e MODA</i> ‡	<i>MIC</i> ₅₀ ‡	<i>MIC</i> ₉₀ ‡
Clortetraciclina	0.25 a >32	4	4	16
Enrofloxacina	0.03 a 4	0.215	0.25	0.5
Eritromicina	4 a >32	32	32	>32
Florfenicolo	0.06 a 8	1	1	4
Ossitetraciclina	0.125 a >32	2	2	16
Spectinomicina	1 a >16	2	2	4
Tilmicosina	0.5 a >128	64	64	>128
Ampicillina	>32	>32	>32	>32
Ceftiofur	64 a >64	>64	>64	>64

* Tutti valori di MIC sono espressi in µg/ml

Range dei valori di MIC per ogni antibiotico

‡ Moda, il risultato ottenuto con maggior frequenza

‡ Mediana e MIC₅₀, risultato centrale

‡ MIC₉₀: il 90% degli isolati hanno una MIC al di sotto del valore



ECVPT

CRITERI FARMACOLOGICI

MECCANISMI D'AZIONE DEI PRINCIPALI CHEMIOANTIBIOTICI

**CONCETTO DI ANTIBIOTICO
AD AZIONE:**



**TEMPO
DIPENDENTE**

**CONCENTRAZIONE
DIPENDENTE**

CRITERI FARMACOLOGICI

MECCANISMI D'AZIONE DEI PRINCIPALI CHEMIOANTIBIOTICI



AZIONE	GRUPPO	FARMACI
BATTERIOSTATICA TEMPO-DIPENDENTE	FENICOLI MACROLIDI TETRACICLINE	FLF, TAF, CAF TYL, TYLM, TLM OTC, CTC, DXC
BATTERICIDA PREVALENTEMENTE TEMPO-DIPENDENTE	PENICILLINE CEFALOSPORINE	BP, AMX, AMP CFT, CFL, CFP
BATTERICIDA PREVALENTEMENTE CONCENTR-DIPEND CON PAE	CHINOLONI AMINOGLICOSIDI	FLU, ENRF, MARB, DANF STM, KAN, GEN

TERAPIA ANTIMICROBICA

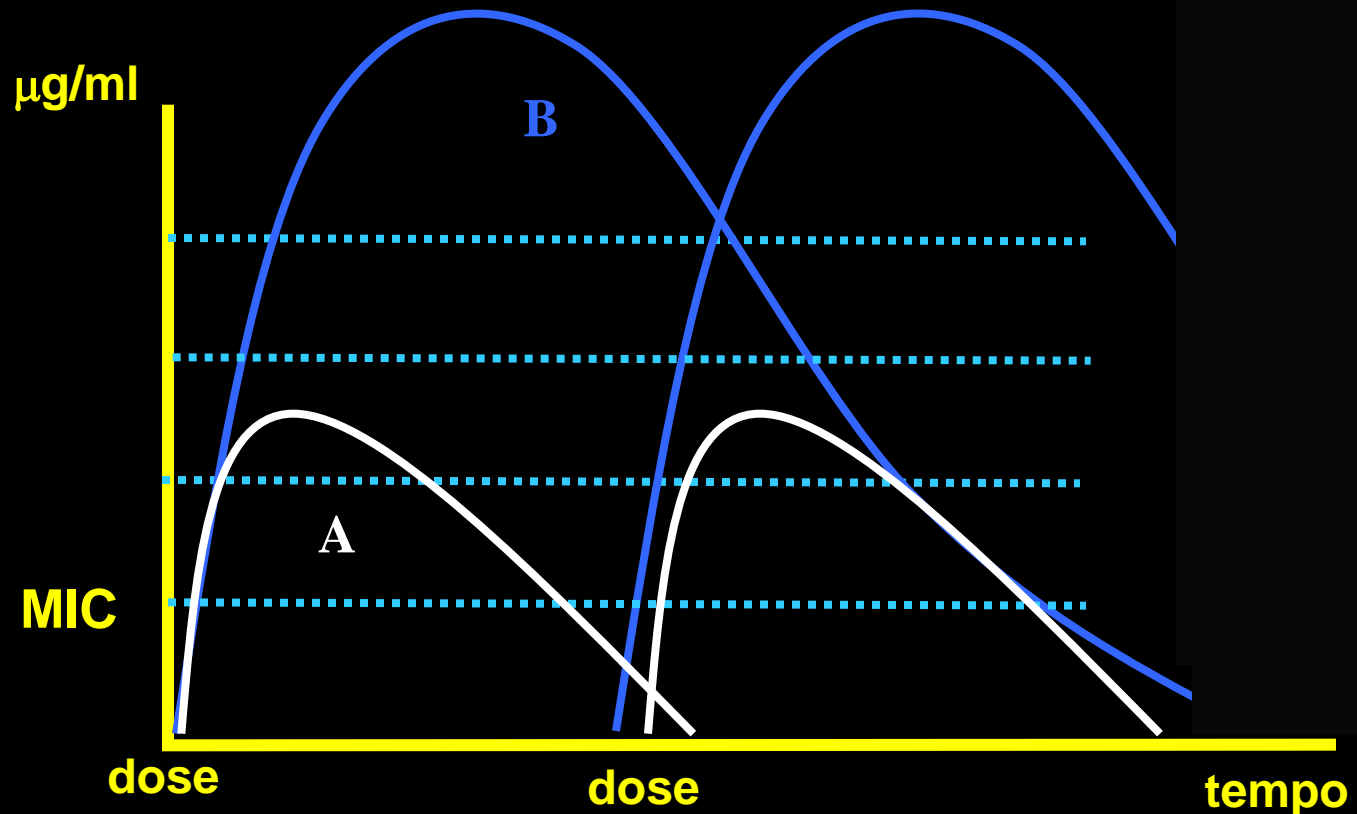
EFFETTO POST-ANTIBIOTICO (PAE o EPA)

- **L'EPA è definito come il periodo durante il quale la crescita batterica viene inibita dopo l'allontanamento del principio attivo**
- **Viene stabilito in laboratorio, mettendo a contatto il ceppo batterico e l'antibiotico da testare per un determinato periodo di tempo, trascorso il quale l'antibiotico viene rimosso mediante lavaggi o diluizioni oppure viene inattivato**
- **Può essere misurato anche come PASME**
 - o **POST-ANTIBIOTIC-SUB-MIC-EFFECT**



TERAPIA ANTIMICROBICA

BATTERIOSTATICI E TEMPO DIPENDENTI:
L'AZIONE DEL FARMACO E' IN DIPENDENZA
DEL TEMPO DI CONTATTO CON IL BATTERIO
IN CUI E' NECESSARIO VI SIANO LIVELLI DI
FARMACO > MIC (minimo 4 x MIC)



TERAPIA ANTIMICROBICA

CHEMIOANTIBIOTICI

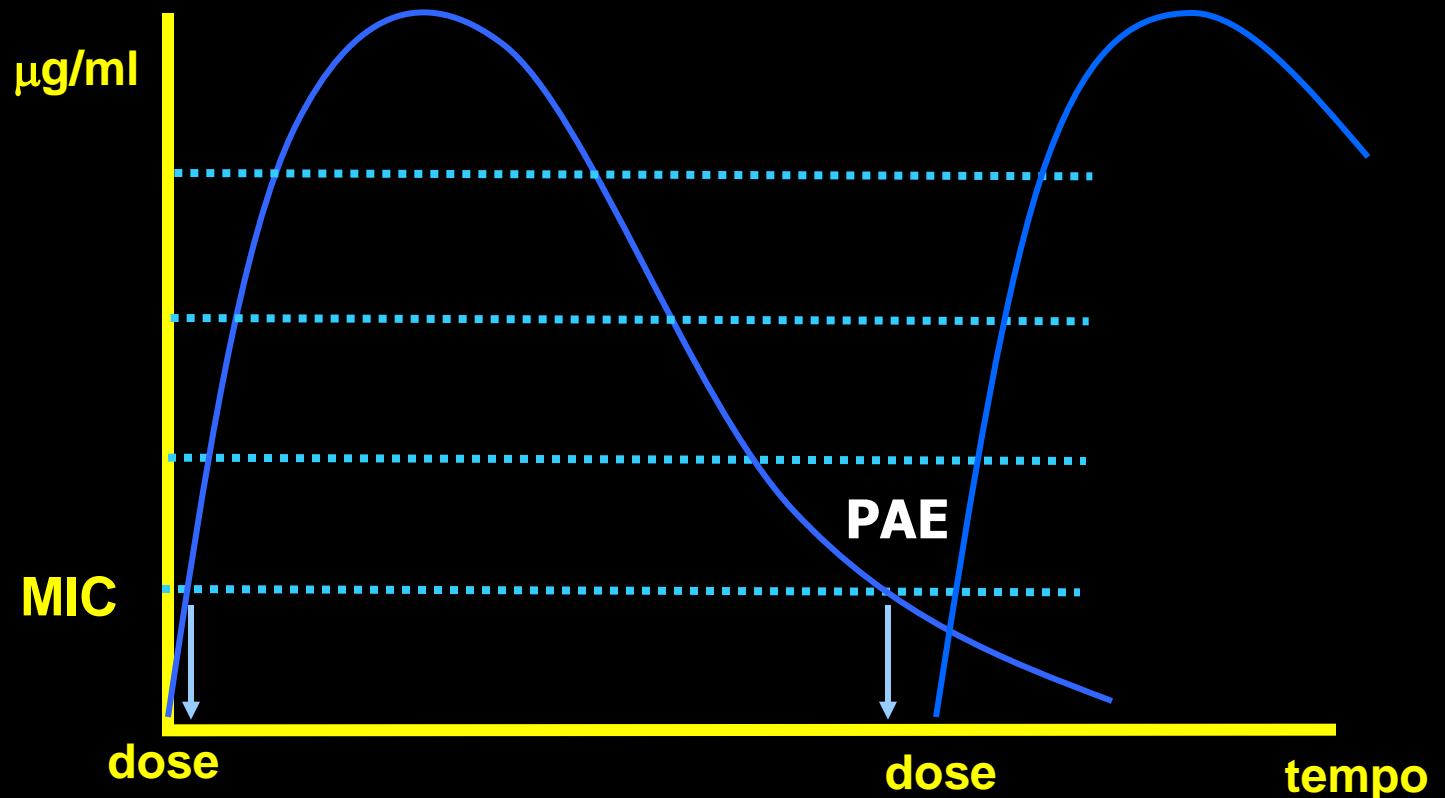
BATTERIOSTATICI E TEMPO DIPENDENTI:

TERAPIA CONTINUA A DOSI OPPORTUNE
RISPETTANDO L'INTERVALLO TRA 2 DOSI
SUCCESSIVE = I LIVELLI PLASMATICI
DEVONO ESSERE SEMPRE SUPERIORI
(min. 4 x MIC) A QUELLI DELLE MIC



TERAPIA ANTIMICROBICA

BATTERICIDI CONCENTRAZIONE DIPENDENTI:
L'AZIONE DEL FARMACO E' IN DIPENDENZA
DELLE CONCENTRAZIONI RAGGIUNTE NEL
TESSUTO E CONTINUA ANCHE QUANDO I LIVELLI
SONO $< \text{MIC}$ = EFFETTO POSTANTIBIOTICO (PAE)



TERAPIA ANTIMICROBICA

CHEMIOANTIBIOTICI

BATTERICIDI CONCENTRAZIONE DIPENDENTI:

LA SOMMINISTRAZIONE DEVE GARANTIRE ELEVATE CONCENTRAZIONI (PICCHI) A LIVELLO TISSUTALE.

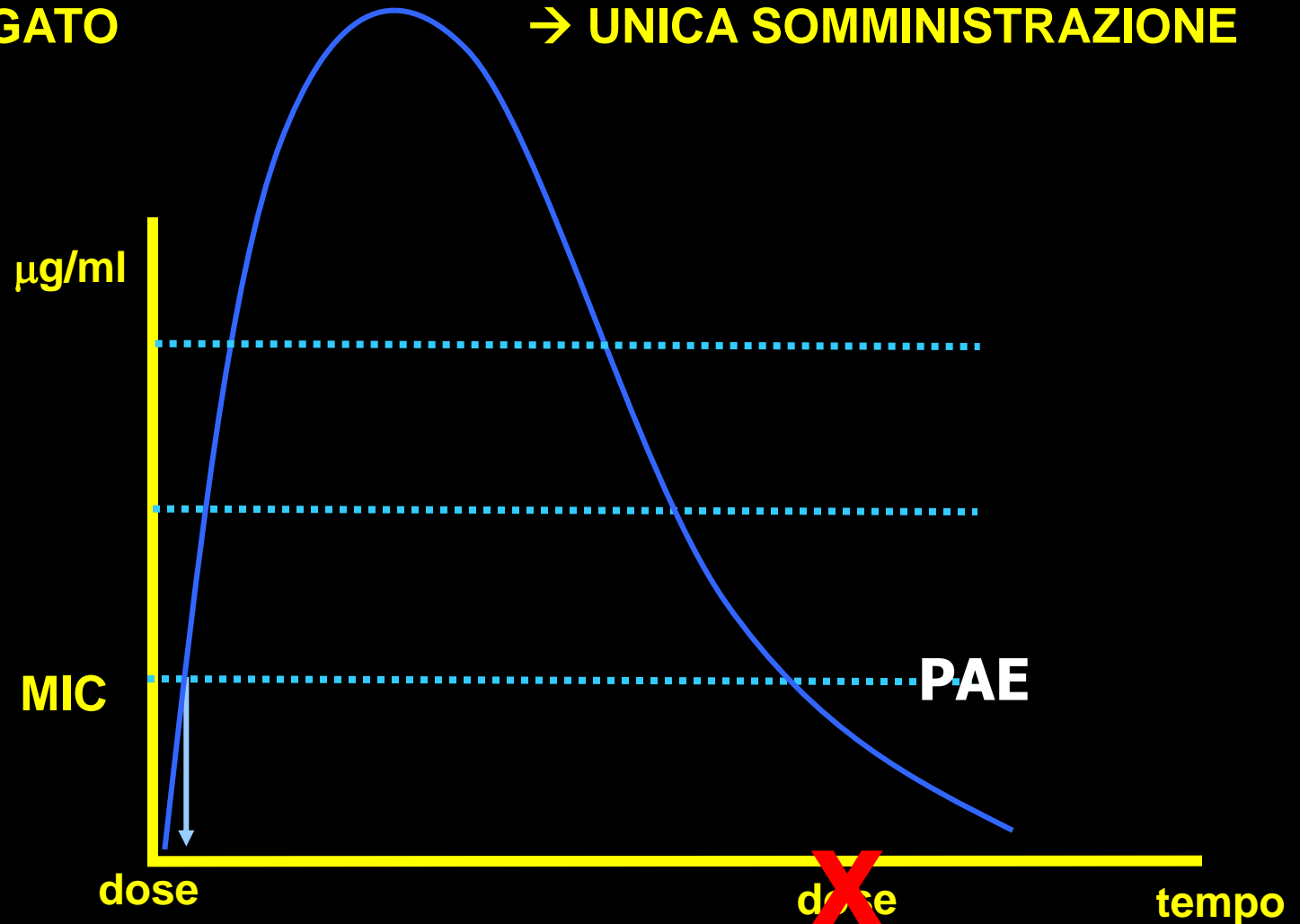
L'EFFETTO POST ANTIBIOTICO GARANTISCE L'EFFICACIA ANCHE SE GLI INTERVALLI TRA LE DOSI SONO PIU' LUNGHI RISPETTO A CONCENTRAZIONI $>MIC$



TERAPIA ANTIMICROBICA

BATTERICIDI CONCENTRAZIONE DIPENDENTI:

CONCENTRAZIONE RAGGIUNTA NEL TESSUTO MOLTO ELEVATA =
L'AZIONE PERMETTE DI SUPERARE LA MIC90 → UCCISIONE DI
OLTRE IL 90% DEI M.O. → AZIONE COMPLETATA DAL PAE
PROLUNGATO → UNICA SOMMINISTRAZIONE





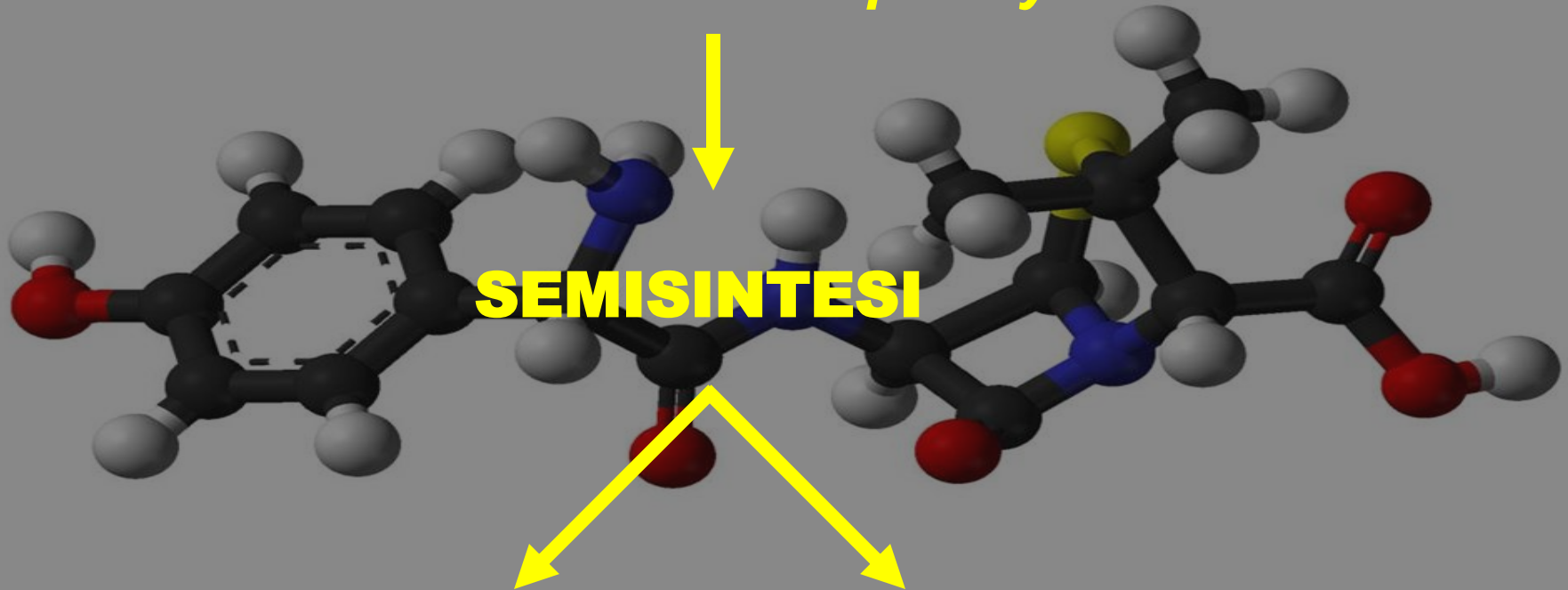
ECVPT

FENICOLI



ECVPT

FAMIGLIA DI ANTIBIOTICI DI ORIGINE NATURALE
CLORAMFENICOLO → *Streptomyces venezuelae*



TIAMFENICOLO

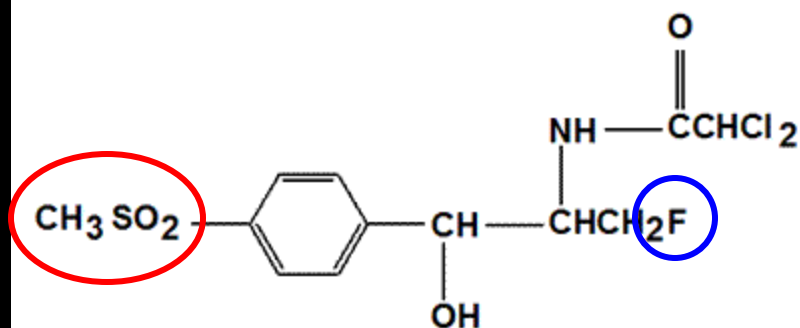
FLORFENICOLO

FLORFENICOLO

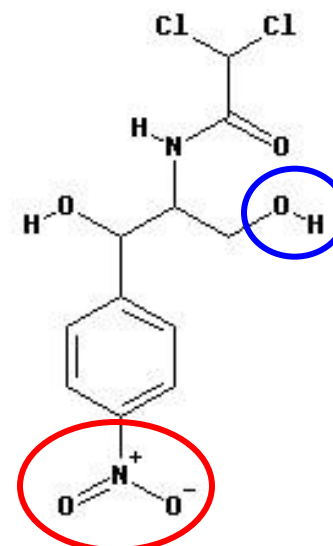
Caratteristiche chimiche

- Il Florfenicolo appartiene al gruppo dei fenicoli
- Si differenzia dal cloramfenicolo per la sostituzione di un nitro-gruppo con un gruppo metilsulfonico
- Si differenzia dal cloramfenicolo e dal tiamfenicolo per la sostituzione di un gruppo ossidrilico (OH) con un atomo di fluoro (F)
- Il florfenicolo è una molecola anfotera con una elevata liposolubilità non ionizzata a pH compresi tra 3 e 9 = ($Vd > 1 \text{ l/Kg}$)

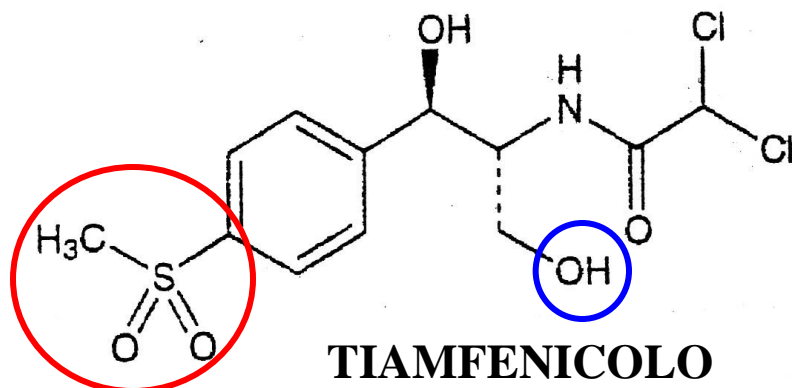
FLORFENICOLA



FLORFENICOLA

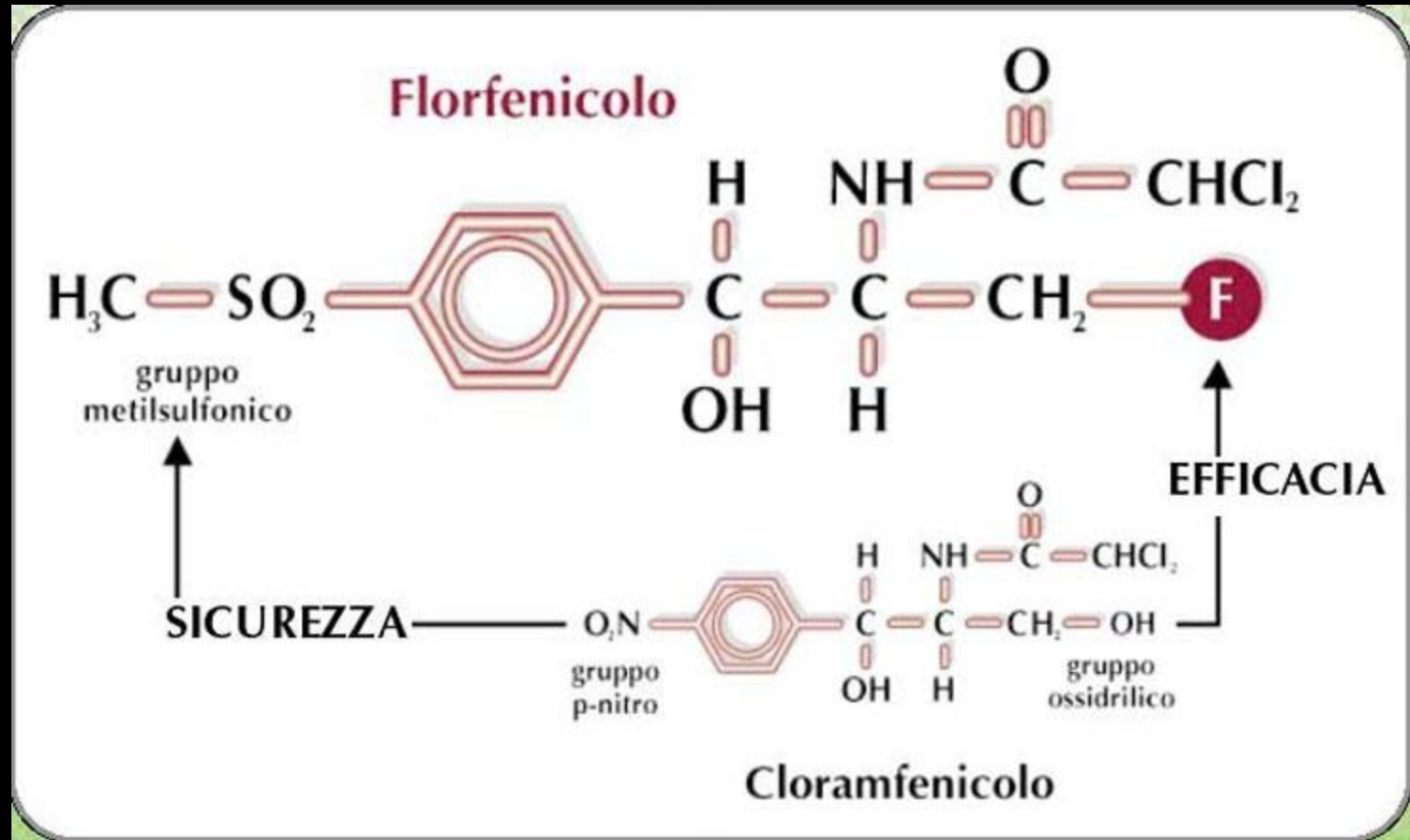


CLORAMFENICOLA



TIAMFENICOLA

FLORFENICOLA



FLORFENICOLO

Sostituzione del nitro-gruppo

=> no rischi di anemia aplastica irreversibile
dose-indipendente (idiosincrasia)

=> elevata sicurezza per gli animali e l'uomo





FLORFENICOLO

Sostituzione di un gruppo OH

⇒ impedisce l'acetilazione della molecola ad opera dell'enzima acetiltransferasi (resistenza plasmidica) prodotto dai batteri resistenti al CAF e al TAF (praticamente irrilevante la resistenza cromosomica)

⇒ di conseguenza il Florfenicolo è attivo anche nei confronti dei batteri CAF e TAF resistenti



ELSEVIER

FEMS Microbiology Reviews 28 (2004) 519–542

FEMS
MICROBIOLOGY
Reviews

www.fems-microbiology.org

Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol

Stefan Schwarz^{a,*}, Corinna Kehrenberg^a, Benoît Doublet^b, Axel Cloeckaert^b

^a Institut für Tierzucht, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Höltystrasse 10, 31535 Neustadt-Mariensee, Germany

^b Unité BioAgresseurs, Santé, Environnement, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), 37380 Nouzilly, France

Received 11 February 2004; received in revised form 5 April 2004; accepted 17 April 2004

First published online 10 May 2004

Abstract

Chloramphenicol (Cm) and its fluorinated derivative florfenicol (Ff) represent highly potent inhibitors of bacterial protein biosynthesis. As a consequence of the use of Cm in human and veterinary medicine, bacterial pathogens of various species and genera have developed and/or acquired Cm resistance. Ff is solely used in veterinary medicine and has been introduced into clinical use in the mid-1990s. Of the Cm resistance genes known to date, only a small number also mediates resistance to Ff. In this review, we present an overview of the different mechanisms responsible for resistance to Cm and Ff with particular focus on the two different types of chloramphenicol acetyltransferases (CATs), specific exporters and multidrug transporters. Phylogenetic trees of the different CAT proteins and exporter proteins were constructed on the basis of a multisequence alignment. Moreover, information is provided on the mobile genetic elements carrying Cm or Cm/Ff resistance genes to provide a basis for the understanding of the distribution and the spread of Cm resistance – even in the absence of a selective pressure imposed by the use of Cm or Ff.

© 2004 Federation of European Microbiological Societies. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Chloramphenicol acetyltransferase; *Cat* and *cml* gene nomenclature; Enzymatic inactivation; Florfenicol resistance; Specific exporter; Multidrug transporter; Co-selection

FLORFENICOLO

IL FLORFENICOLO VIENE METABOLIZZATO A LIVELLO EPATICO VIA CYP-450 SONO STATI EVIDENZIATI OLTRE AL FLORFENICOLO (45-60%)

4 METABOLITI PRINCIPALI:

- FLORFENICOLO-AMINA (11-17%)**
- FLORFENICOLO-OH (1%)**
- FLORFENICOLO ACIDO OSSAMICO (<10%)**
- FLORFENICOLO MONOCLORURO (2%)**

I METABOLITI SONO PRATICAMENTE PRIVI DI ATTIVITA' ANTIMICROBICA (AMINA 90 VV < FLF; ALCOOL 30 VV < FLF; ACIDO OSSAMICO NON ATTIVO)

FLORFENICOLO

**IL FLORFENICOLO VIENE ELIMINATO
PRINCIPALMENTE
CON LE URINE:**

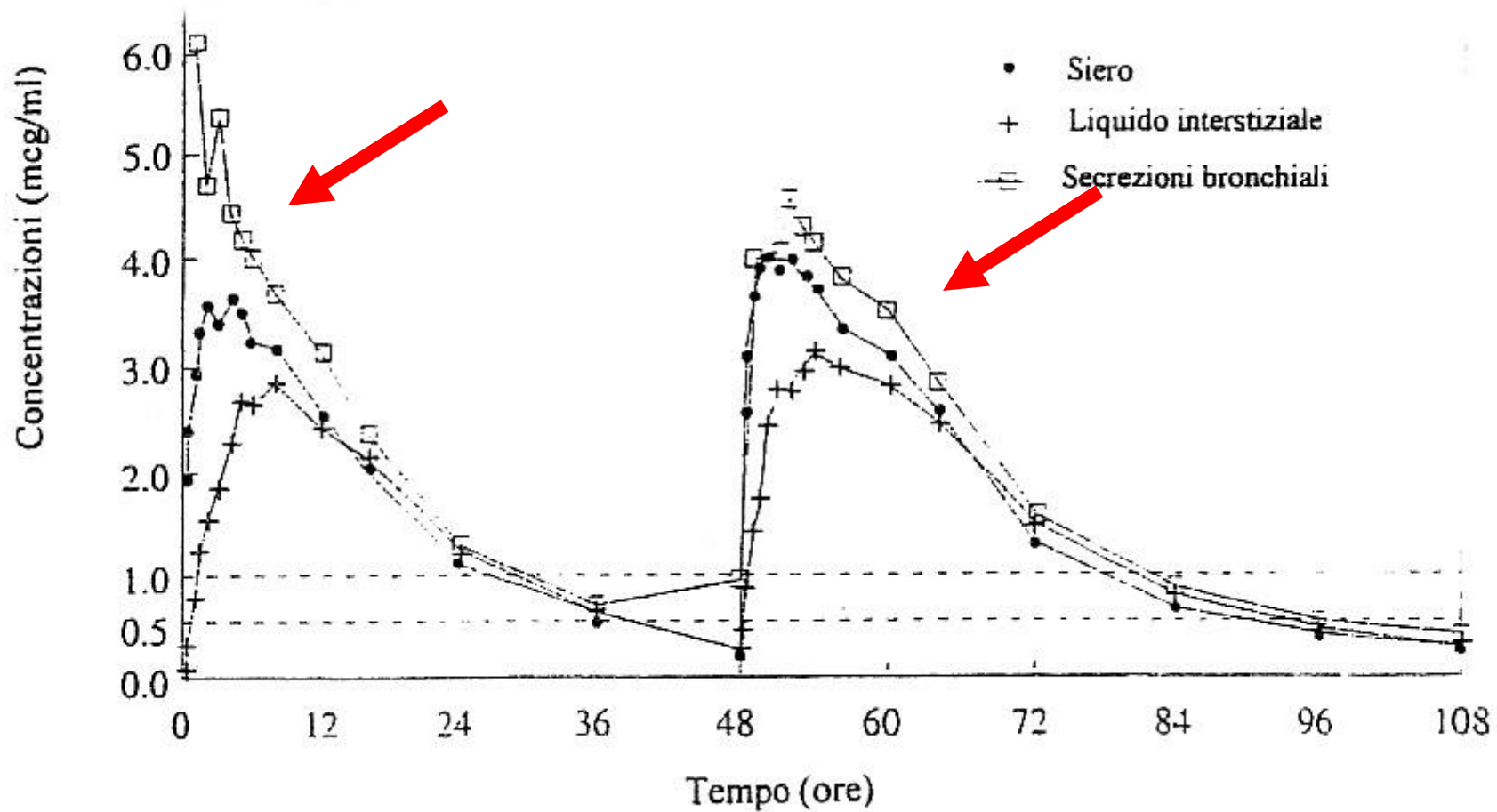
SUINO → 81%

**LA QUOTA RESTANTE VIENE ELIMINATA
CON LE FECI**

SUINO → 19%



FLORFENICOLA



FLORFENICOLO

Variabili	Dose 1	Dose 2
Siero		
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	3,78 \pm 0,59	4,11 \pm 0,72
T_{max} (ore)	3,17 \pm 1,33	3,17 \pm 1,47
$T_{1/2}$ (ore)	9,37 \pm 2,55	11,4 \pm 2,22
Liquido interstiziale		
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	2,84 \pm 0,41	3,22 \pm 0,61
T_{max} (ore)	7,33 \pm 1,08	7,00 \pm 4,82
Secrezioni bronchiali		
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	7,05 \pm 1,10	4,68 \pm 0,58
T_{max} (ore)	1,83 \pm 0,98	3,97 \pm 1,37

**PARAMETRI CINETICI A SEGUITO DI 2 DIVERSE
SOMMINISTRAZIONI DI FFC ALLA DOSE DI 20 mg/Kg**



FLORFENICOLO

SPETTRO D'AZIONE

Lo spettro di attività antimicrobica del Florfenicolo è estremamente ampio, infatti comprende batteri Gram +, Gram – e Micoplasmi

Mannheimia haemolytica

Pasteurella multocida

Mycoplasma spp. Actinobacillus pleuropneumoniae



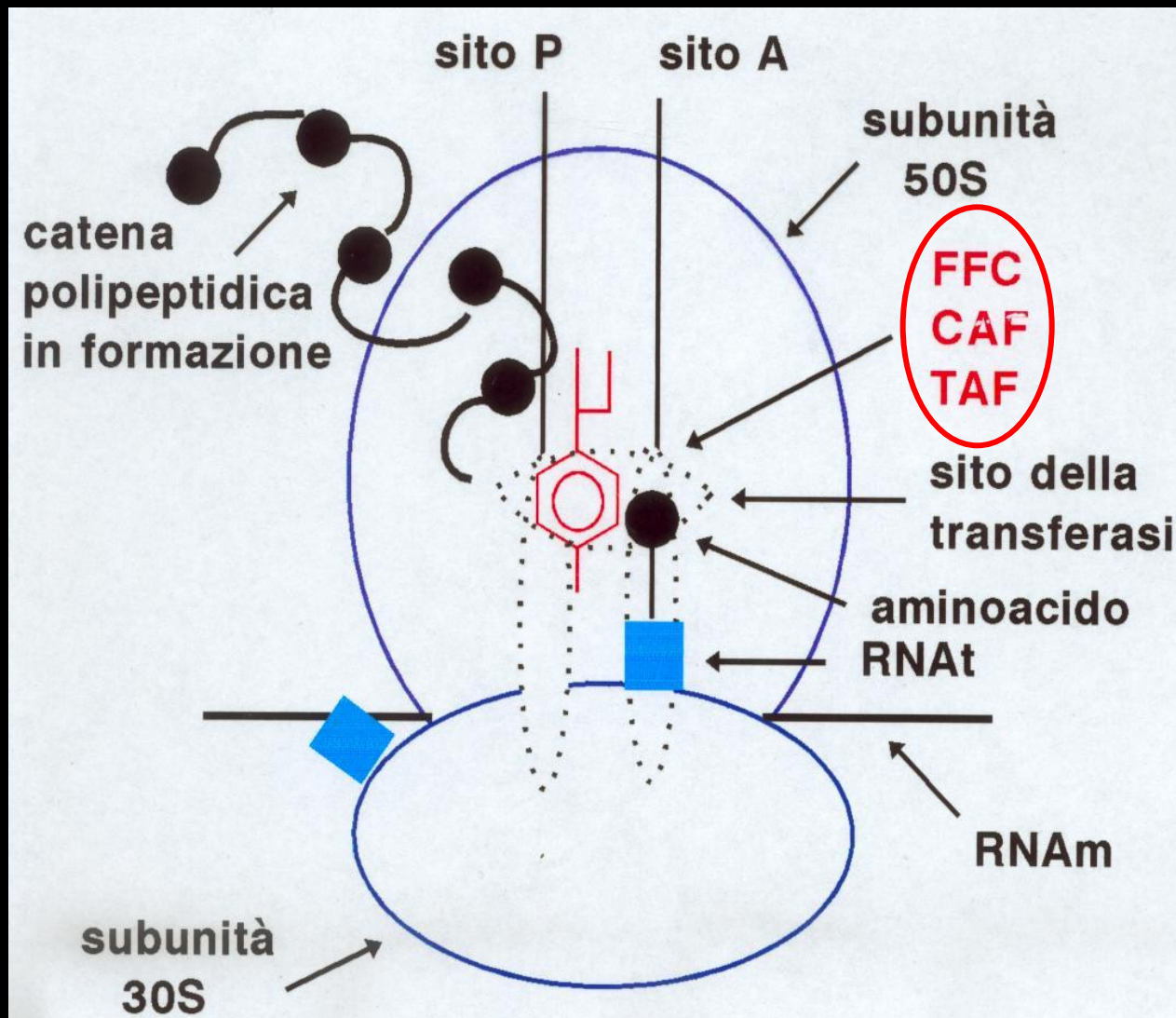
FLORFENICOLOR

Meccanismo d'azione

- **All'interno della cellula batterica
Florfenicolo si lega alla subunità 50 S
dei ribosomi**
- **A tale livello inibisce la sintesi delle proteine
batteriche**

FLORFENICOLA

Meccanismo d'azione



FLORFENICOLO

Meccanismo d'azione

- **L'azione dei fenicoli è primariamente di tipo batteriostatico**
- **per il florfenicolo è stato però riscontrato un effetto battericida a concentrazioni poco superiori alle MIC**
- **per alcuni ceppi batterici l'effetto battericida si esplica già a concentrazioni pari alle MIC (MIC = MIB)**

FLORFENICOLA

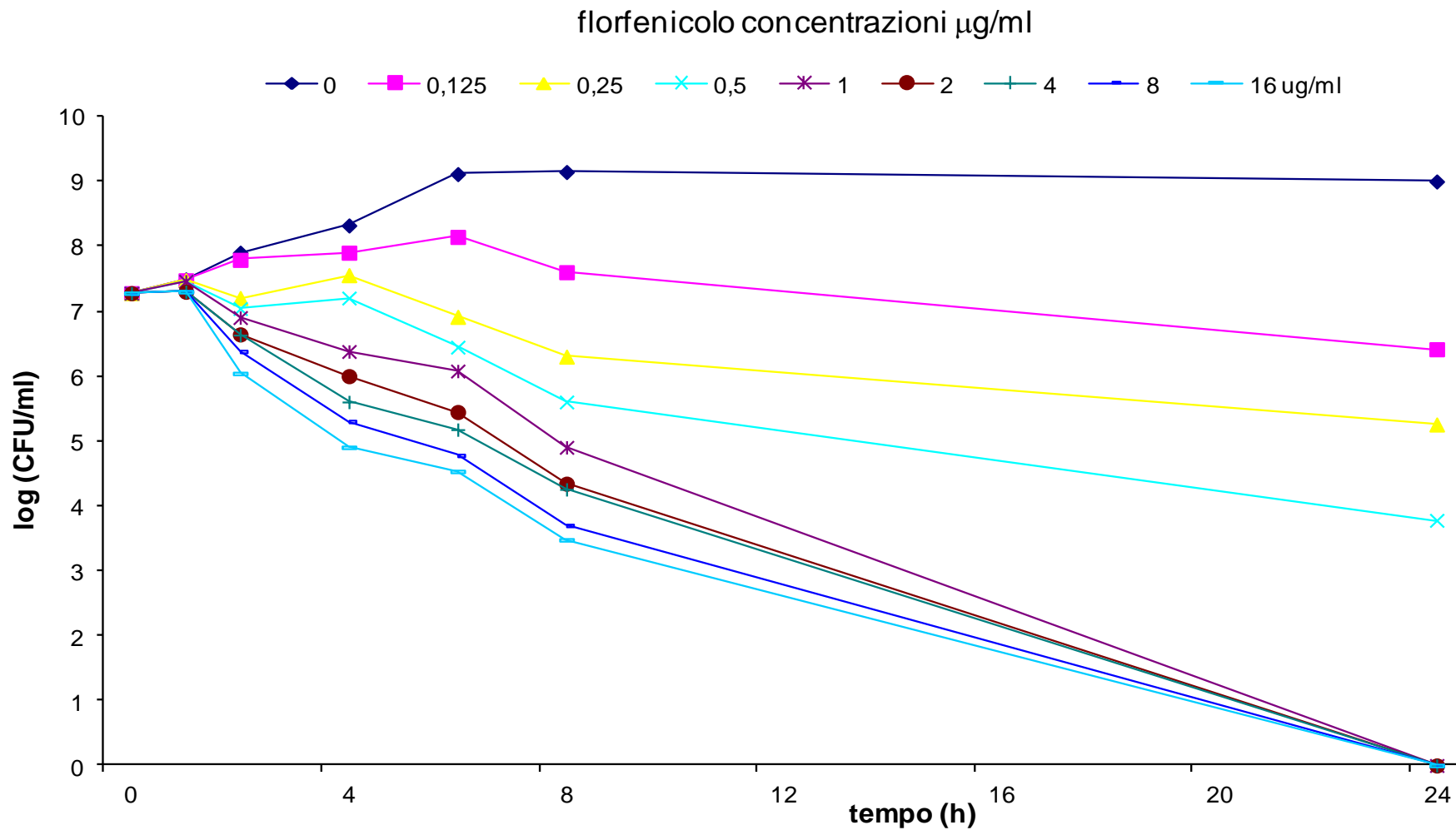
Meccanismo d'azione

Isolamenti (N=35)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		MBC ($\mu\text{g/ml}$)	
	Intervallo	Media	Intervallo	Media
<i>P. haemolytica</i>	0,5-2,0	0,6	0,5-2,0	1,3
<i>P. multocida</i>	0,25-1,0	0,5	0,5-2,0	1,06

MBC= Concentrazione Battericida Minima

FLORFENICOLO

Curva Attività battericida - *Pasteurella multocida*



FLORFENICOLO

Curva Attività battericida - *Actinobacillus pleuropneumoniae*

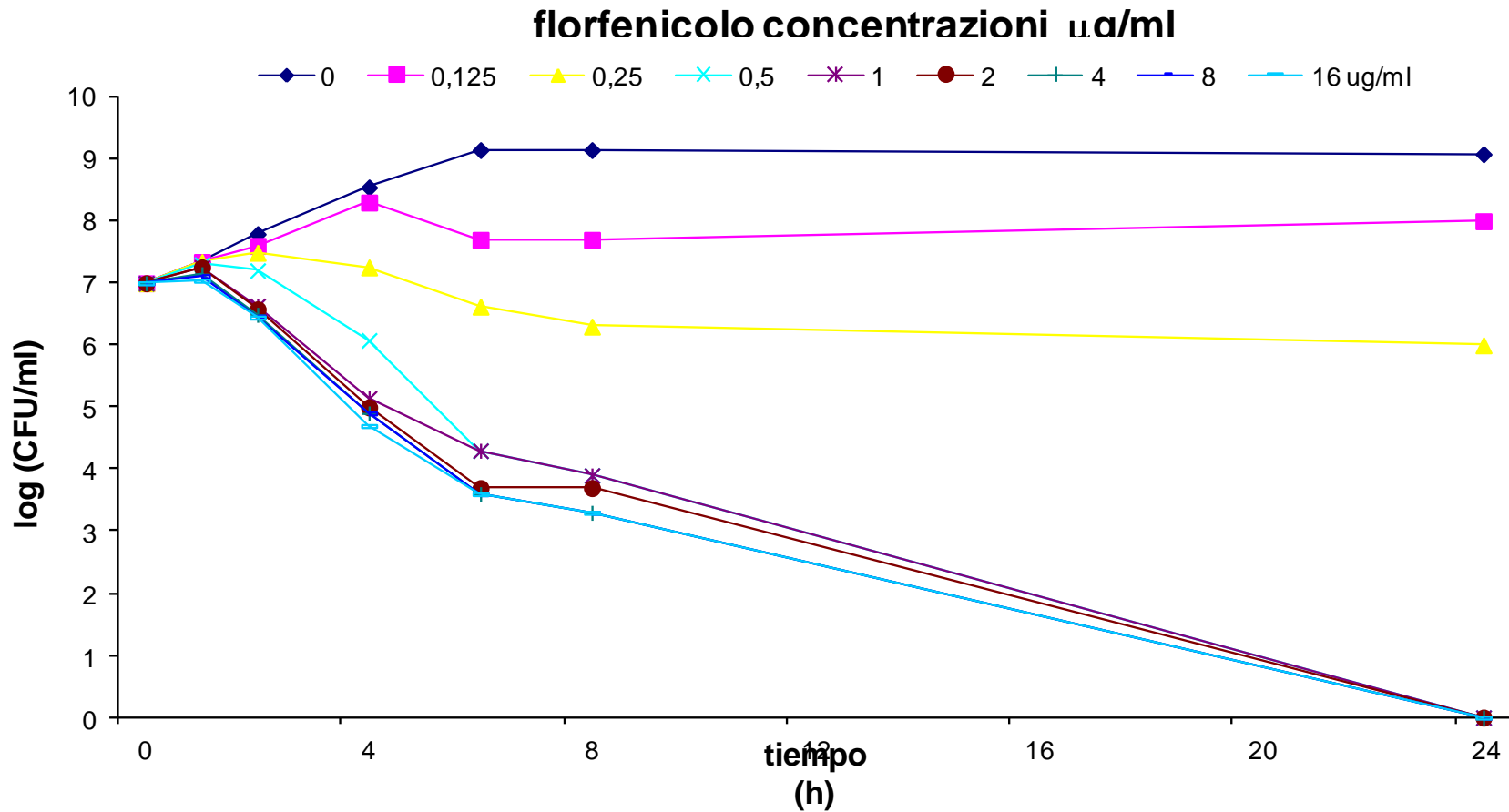


Table 1. Antimicrobial susceptibility to six antimicrobial agents

Species (# of species)	Range of minimum inhibitory concentration ($\mu\text{g/ml}$) (MIC ₅₀ , MIC ₉₀)					
	Chloramphenicol	Florfenicol	Thiamphenicol	Amoxicillin	Oxolinic acid	Oxytetracycline
<i>Klebsiella</i> spp. (n=21)	0.78-100 ^a (12.5, 100)	0.78-25 ^a (12.5, 25)	^{AB} 0.78- >100 ^b (100, >100)	0.2- >100 ^c (>100, >100)	0.05-100 ^a (1.56, 100)	25- >100 ^c (>100, >100)
<i>Pseudomonas</i> spp. (n=32)	0.78-100 ^a (3.125, 50)	0.78- >100 ^a (1.56, 25)	^{AB} 0.78- >100 ^b (100, >100)	1.56- >100 ^b (12.5, >100)	0.39-100 ^a (0.39, 12.5)	12.5- >100 ^b (50, >100)
<i>Streptococcus</i> spp. (n=12)	0.78- >100 ^a (3.125, 6.25)	0.78- >100 ^a (1.56, 12.5)	^{AB} 6.25- >100 ^{ab} (12.5, 100)	1.56- >100 ^{bc} (12.5, >100)	0.1- >100 ^{ab} (25, 100)	25- >100 ^c (>100, >100)
<i>Vibrio</i> spp. (n=58)	0.78-100 ^a (3.125, 25)	0.78-50 ^a (3.125, 50)	^{AB} 0.78- >100 ^b (12.5, 100)	0.2- >100 ^c (25, >100)	0.025-50 ^a (1.56, 6.25)	3.125- >100 ^{bc} (25, >100)

Different capital letters showed the values of MIC among different species of isolates were significantly different ($p < 0.05$) (Duncan's multiple range test).

Different small letters showed the values of MIC of different kind of antimicrobials against the species were significantly different ($p < 0.05$) (T test).

MIC₅₀: the minimal concentration that could inhibit 50% of tested isolates.

MIC₉₀: the minimal concentration that could inhibit 90% of tested isolates.



In vitro antimicrobial inhibition of *Mycoplasma bovis* isolates

Table 1. Minimum inhibitory concentration values (24 hr) of *Mycoplasma bovis* isolates (n = 192) using a broth microdilution assay with 5% resazurin reagent.*

	Range (n = 192)	Mode (n = 192)	Median (n = 192)	Median of quarter milk isolates (n = 151)	Median of lung isolates (n = 33)
Ceftiofur	>125	>125	>125	>125	>125
Enrofloxacin	0.025–3.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Erythromycin	>3.2	>3.2	>3.2	>3.2	>3.2
Florfenicol	<1–32	4	4	4	4
Oxytetracycline	0.05 to >12.8	6.4	6.4	6.4	6.4
Spectinomycin	2 to >256	>256	>256	>256	8
Tetracycline	0.05 to >12.8	1.6	3.2	3.2	3.2

*All antimicrobial concentrations are presented in µg/ml.



ECVPT

FLORFENICOLOR



FLORFENICOLO

Meccanismo d'azione

Effetto Post-Antibiotico

Per il florfenicolo è stata dimostrata l'esistenza di un Effetto Post-Antibiotico (EPA o PAE = *Post-Antibiotic Effect*)



FLORFENICOLOR

Meccanismo d'azione

- **Dopo 2 ore di contatto (tempo standard), l'Effetto Post-Antibiotico del Florfenicolo (0,25 - 4 µg/ml) verso Pasteurella è stato mediamente di 1,24 ore**
- **Dopo 18 ore di contatto, alle concentrazioni superiori alla MIC non si è avuta alcuna crescita batterica dopo l'allontanamento del florfenicolo a causa dell'effetto battericida**



FLORENICOLO

TOLLERABILITA'

I PRINCIPALI EFFETTI COLLATERALI OSSERVATI NEGLI ANIMALI TRATTATI SONO RAPPRESENTATI DA REAZIONI LOCALI, DIMINUZIONE DEL CONSUMO DI CIBO E ACQUA RIDUZIONE DELL'ATTIVITA' SPONTANEA, RIDUZIONE DELL'INCREMENTO PONDERALE E FECI MOLLI



FLORFENICOLO

TOSSICITA':

**IL CANE E' RISULTATO SPECIE PIU' SENSIBILE
→ NOEL = 1 mg/Kg p.v./die**

RATTO-TOPO: DL₅₀ PER VIA ORALE > 2 g/Kg p.v./die

**STUDI DI TOSSICITA' RIPETUTA (fino a 52 sett) NEL
RATTO → DANNI EMATOLOGICI E ATROFIA
TESTICOLARE**

**NESSUN EFFETTO TERATOGENO E GENOTOSSICO
A TUTTE LE DOSI PROVATE (*in vivo* ed *in vitro*)**



ECVPT

TERAPIA ANTIMICROBICA

ASSOCIAZIONE-SINERGISMO

- 1) TERAPIA EMPIRICA DI INFEZIONI AD EZIOLOGIA NON NOTA**
- 2) TERAPIA DI INFEZIONI SOSTENUTE DA DIVERSI MICROORGANISMI**
- 3) AUMENTARE L'EFFICACIA TERAPEUTICA (SINERGISMO)**
- 4) PREVENIRE/EVITARE FENOMENI DI FARMACO-RESISTENZA**
- 5) LIMITARE O DIMINUIRE LA TOSSICITA'**



ECVPT

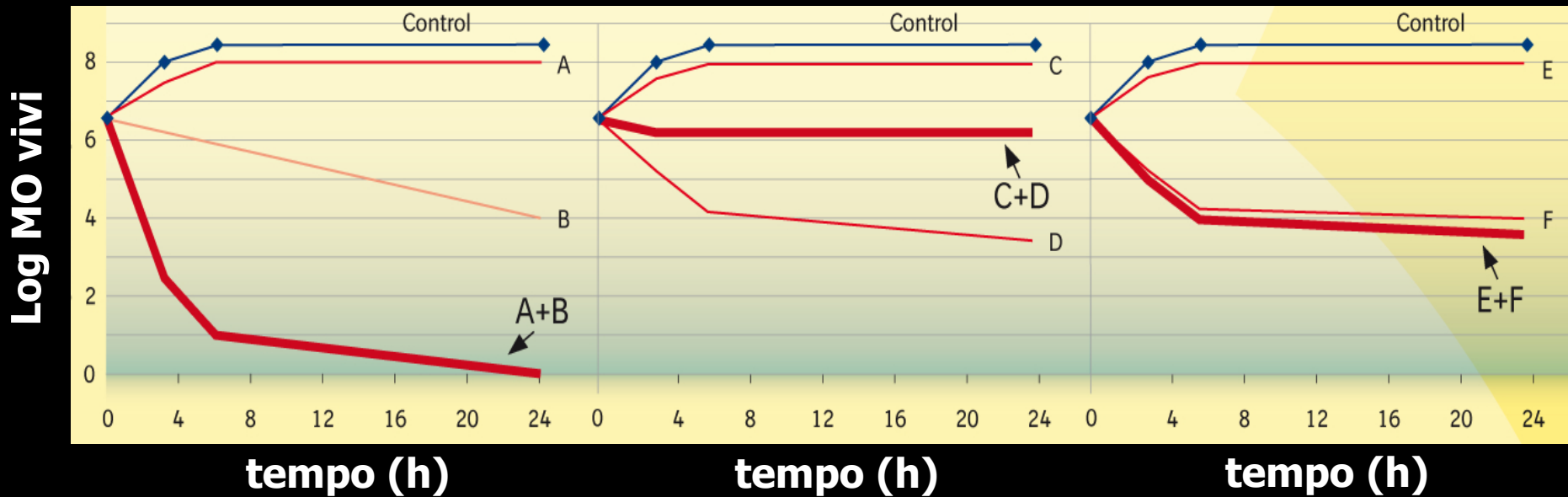
TERAPIA ANTIMICROBICA

CONSEGUENZE DELL'ASSOCIAZIONE?

SINERGISMO

ANTAGONISMO

INDIFFERENZA





TERAPIA ANTIMICROBICA

REGOLA GENERALE:

GLI ANTIBIOTICI BATTERIOSTATICI (tetracicline, macrolidi, fenicoli, sulfamidici) DI SOLITO ANTAGONIZZANO L'EFFETTO DEGLI ANTIBIOTICI BATTERICIDI (β -lattamine, aminoglicosidi, chinoloni)

QUESTO E' PARTICOLARMENTE EVIDENTE CON BATTERICIDI CHE AGISCONO SUI GERMI IN FASE DI ATTIVA REPLICAZIONE (crescita logaritmica) COME LE β -LATTAMINE (penicilline-cefalosporine)

E' MEGLIO ASSOCIARE BATTERIOSTATICI CON BATTERIOSTATICI E BATTERICIDI CON BATTERICIDI



ECVPT

TERAPIA ANTIMICROBICA

ASSOCIAZIONE TRA ANTIBIOTICI

FENICOLI

MEGLIO NON ASSOCIARE I FENICOLI CON ALTRI ANTIBIOTICI:

CON UN BATTERICIDA, ESSENDO BATTERIOSTATICI CON PAE, L'ANTAGONISMO E' MOLTO MARCATO

CON ALTRI BATTERIOSTATICI DATA L'AMPIEZZA DELLO SPETTRO SI RENDE INUTILE L'ASSOCIAZIONE DATO IL MECCANISMO D'AZIONE DI SOLITO E' PRESENTE INDIFFERENZA

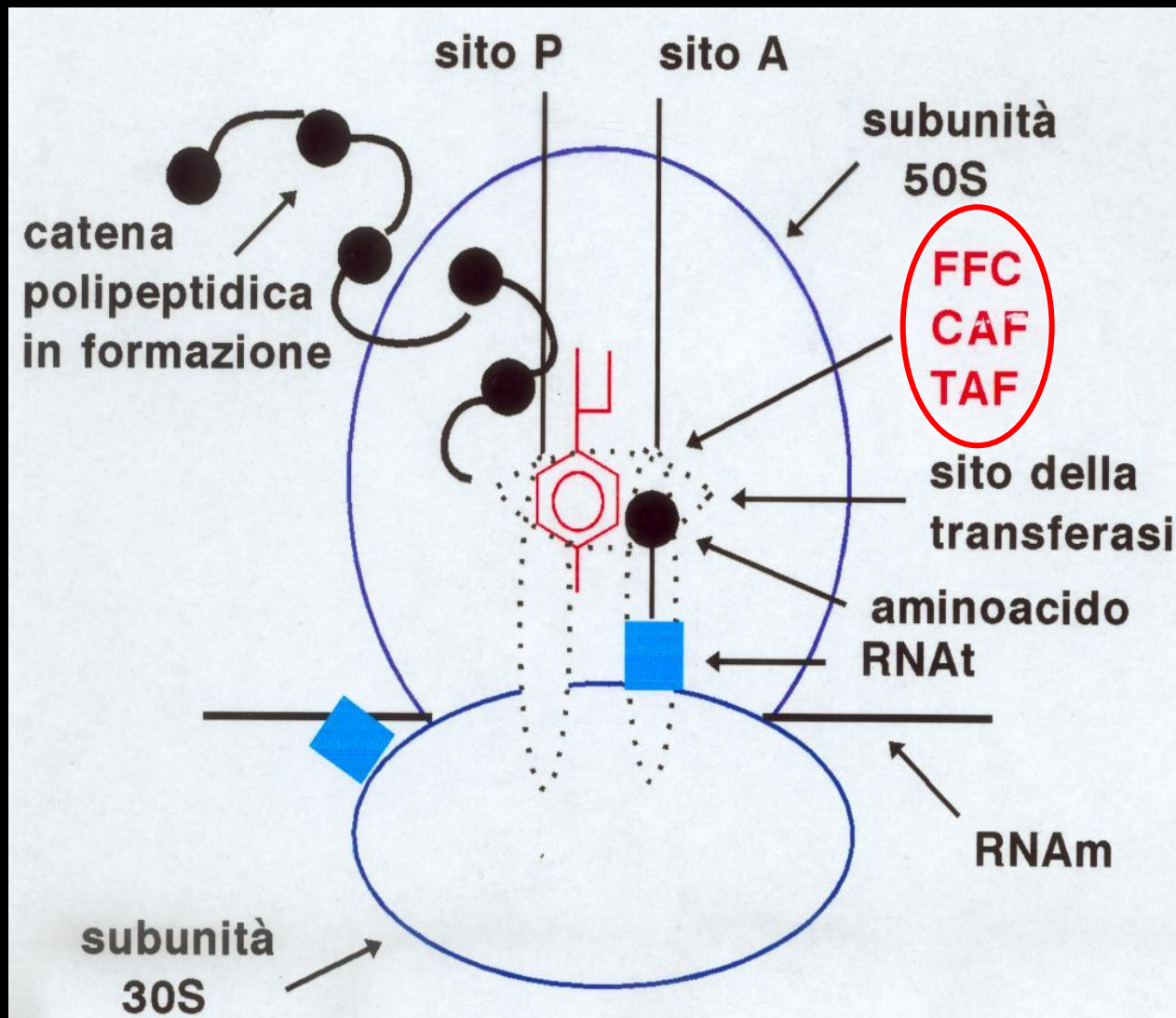
CONTROVERSA L'EFFICACIA DELL'ASSOCIAZIONE FENICOLO-MACROLIDE



ECVPT

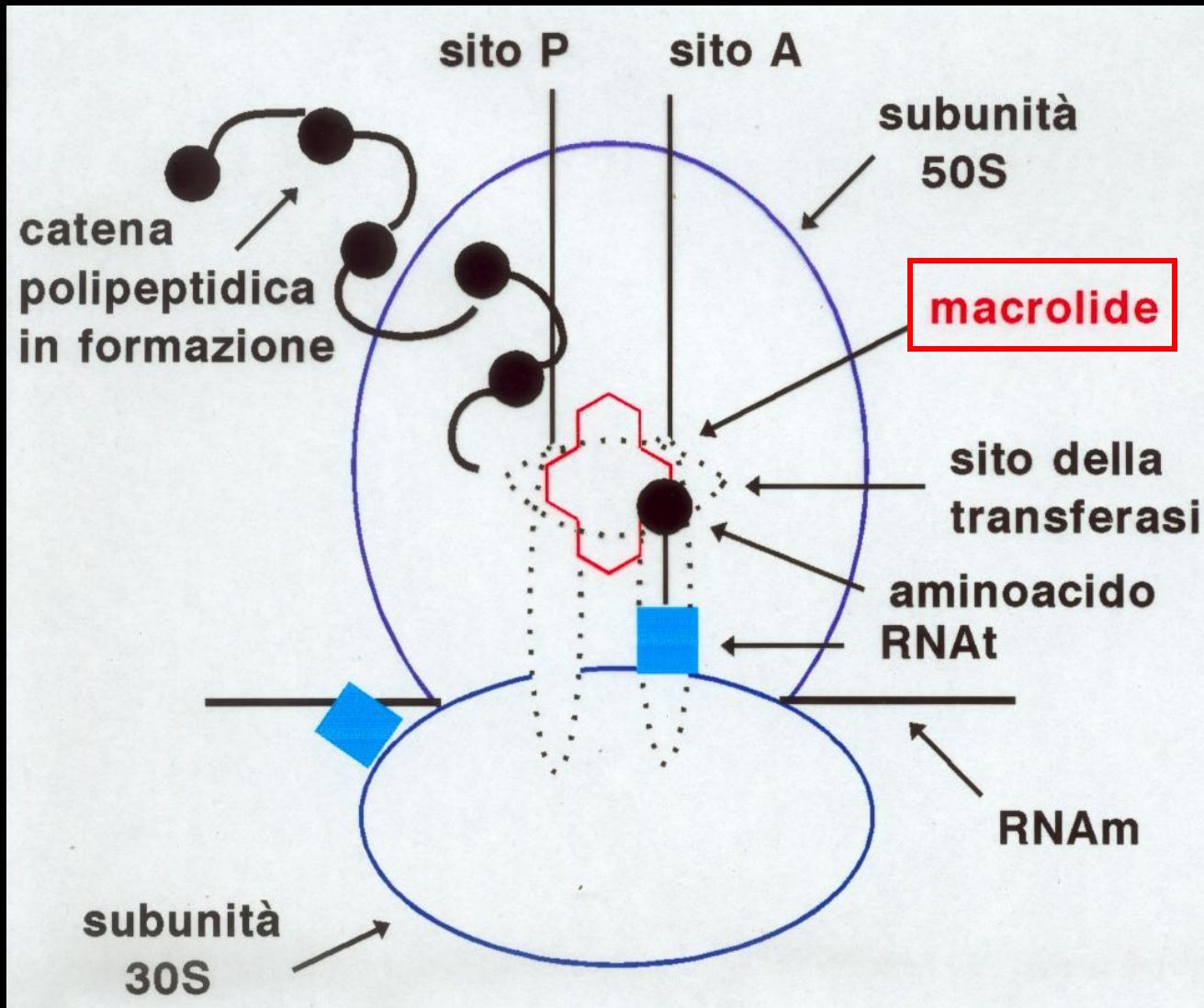
FLORFENICOLA

Meccanismo d'azione



MACROLIDI

Meccanismo d'azione



CENNI DI FARMACOLOGIA DEGLI ANTIBIOTICI: I POLIPEPTIDI

GIOVANNI RE

DVM, PhD, Dip.ECVPT

Dipartimento di Patologia Animale

Sezione di Farmacologia & Tossicologia

Università degli Studi di Torino

Presidente Ordine Medici Veterinari AL



Mantova 22 giugno 2012



CHEMIOANTIBIOTICI

POLIPEPTIDI

DA BACILLI AEROBI SPORIGENI

POLIMIXINA B - COLISTINA

ATTIVITA' ANTIBATTERICA

1- MECCANISMO D'AZIONE

DI TIPO BATTERICIDA: ALTERANO LA PERMEABILITA' DI MEMBRANA MODIFICANDONE UN FOSFOLIPIDE

2- SPETTRO D'AZIONE

GERMI GRAM-

3- RESISTENZA

CROMOSOMICA RARA E A LENTA INSORGENZA



ECVPT

CHEMIOANTIBIOTICI

POLIPEPTIDI

BACITRACINA - TIROTRICINA

AZIONE SUI GRAM+ (INIBIZIONE SINTESI PARETE CELLULARE), ANCHE SU TRICHOMONAS (TIROTRICINA). ELEVATA TOSSICITA' RENALE; NON ASSORBITE X OS.



CHEMIOANTIBIOTICI

POLIPEPTIDI 2

POLIMIXINA B - COLISTINA

FARMACOCINETICA

1- ASSORBIMENTO

PRATICAMENTE NULLO X OS, RAPIDO X IM E SC

2- DISTRIBUZIONE

LEGAME PROTEICO MEDIO (CIRCA 55%), DEBOLE
DIFFUSIONE TISSUTALE E NEL LATTE

3- BIOTRASFORMAZIONE ED ELIMINAZIONE

PARZIALE METABOLIZZAZIONE, ELIMINATI X
FILTRAZIONE GLOMERULARE

4- TOSSICITA'

NEFROTOSSICITA' (NECROSI TUBULARE); BLOCCO
NEUROMUSCOLARE; POLINEURITI



ECVPT

COLISTINA

La colistina è un antibiotico prodotto da alcuni ceppi di *Bacillus polymyxa* var. *colistinus*, microorganismo isolato nel 1949 da un campione di terreno prelevato nel distretto di Fukushima, in Giappone. Si tratta di una miscela di vari composti ad attività antibiotica che condividono una struttura fondamentale comune.



ECVPT

COLISTINA

La colistina appartiene al gruppo delle polimixine, la cui struttura chimica è costituita da un polipetide ciclico, composto da D- e L-aminoacidi (D-leucina; L-treonina e acido L- α - γ -diaminobutirrico o L-DABA) organizzati in un anello eptapeptidico che presenta una catena laterale tripeptidica legata covalentemente, per mezzo del gruppo acilico del L-DABA, con un acido grasso. Dalla colistina, quale prodotto di fermentazione batterica, sono stati isolati **almeno trenta diversi componenti**, di cui **tredici** sono stati caratterizzati dal punto di vista strutturale e che differiscono parzialmente tra loro per composizione in aminoacidi e in acidi grassi.

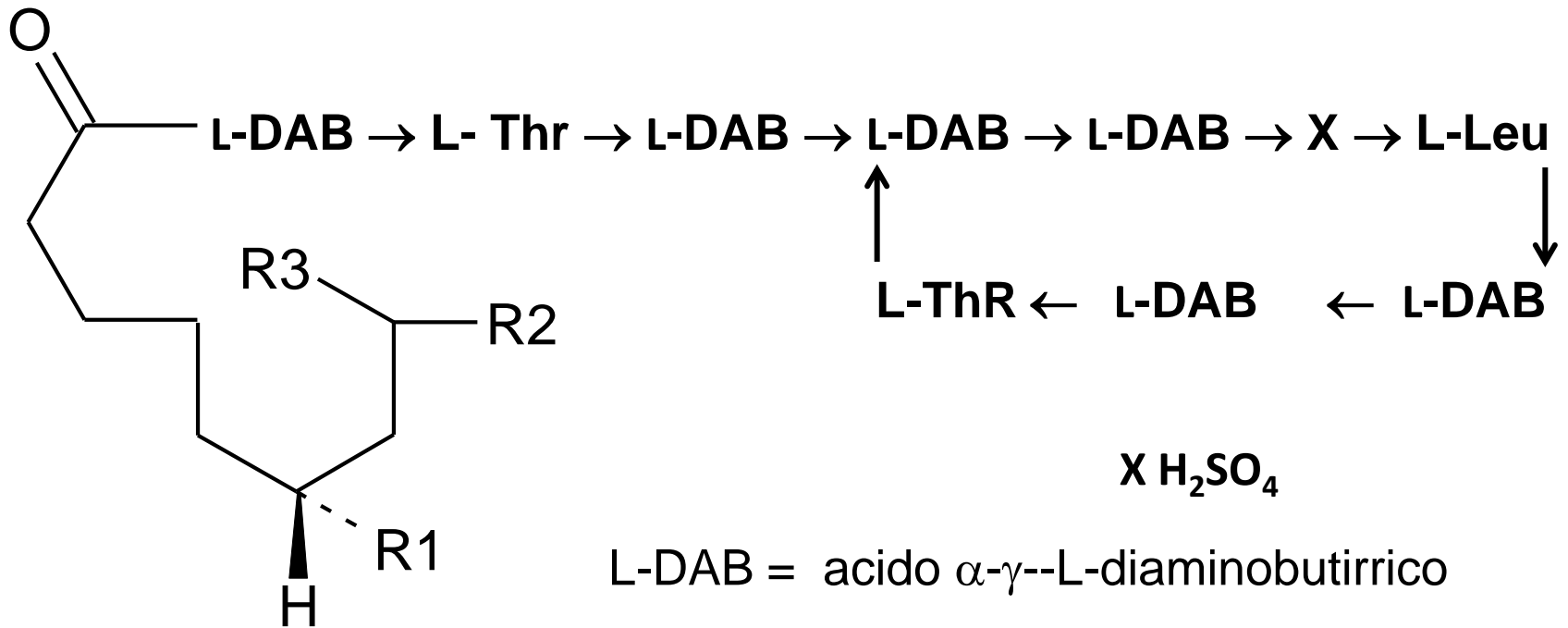


ECVPT

COLISTINA

I due principali componenti sono rappresentati dalla **colistina A (polimixina E₁)** e dalla **colistina B (polimixina E₂)**, che si distinguono per la presenza di due diversi acidi grassi, rispettivamente l'acido 6-metil octanoico e l'acido 6-metil eptanoico. Componenti minori sono rappresentati dalla **polimixina E₃ e E₄**, dalla norvalina-polimixina E₁, valina-polimixina E₁, valina-polimixina E₂, isoleucina-polimixina E₁, polimixina E₇ e dall'isoleucina-polimixina E₁

COLISTINA



Sostituzioni, formule brute e pesi molecolari di alcuni componenti che costituiscono la colistina

	X	R1	R2	R3	Formula bruta	Peso molecolare
Colistina E1	D-Leu	CH ₃	CH ₃	H	C ₅₃ H ₁₀₀ N ₁₆ O ₁₃	1170
Colistina E2	D-Leu	CH ₃	H	H	C ₅₂ H ₉₈ N ₁₆ O ₁₃	1155
Colistina E3	D-Leu	H	CH ₃	H	C ₅₂ H ₉₈ N ₁₆ O ₁₃	1155
Colistina E1-l	D-Ile	CH ₃	CH ₃	H	C ₅₃ H ₁₀₀ N ₁₆ O ₁₃	1170
Colistina E1-7MOA	D-Leu	H	CH ₃	CH ₃	C ₅₃ H ₁₀₀ N ₁₆ O ₁₃	1170



COLISTINA

Una Unità di colistina è definita come la concentrazione minima in grado di inibire la crescita di *E. coli* 95 I.S.M. in 1 ml di brodo a pH 7.2.

Alla colistina pura è stata assegnata una potenza pari a 1000 μg attività base/mg (30.000 UI/mg).

La potenza teorica della colistina solfato è pari a 800 μg attività base /mg (24.000 UI/mg) (EMEA, 1995).



ECVPT

COLISTINA

La colistina presenta caratteristiche idrofobiche, attribuibili alla porzione costituita da acidi grassi e basiche (**pKa di circa 10**) conferite dagli aminogruppi della porzione peptidica.

Questo fa sì che.....?



COLISTINA

La colistina pur non essendo idrosolubile si presenta in forma ionizzata (polare) a tutti i pH fisiologici (pKa di circa 10) per cui non è in grado di attraversare le barriere costituite dalle membrane cellulari

Questo significa che quando somministrata per via orale.....

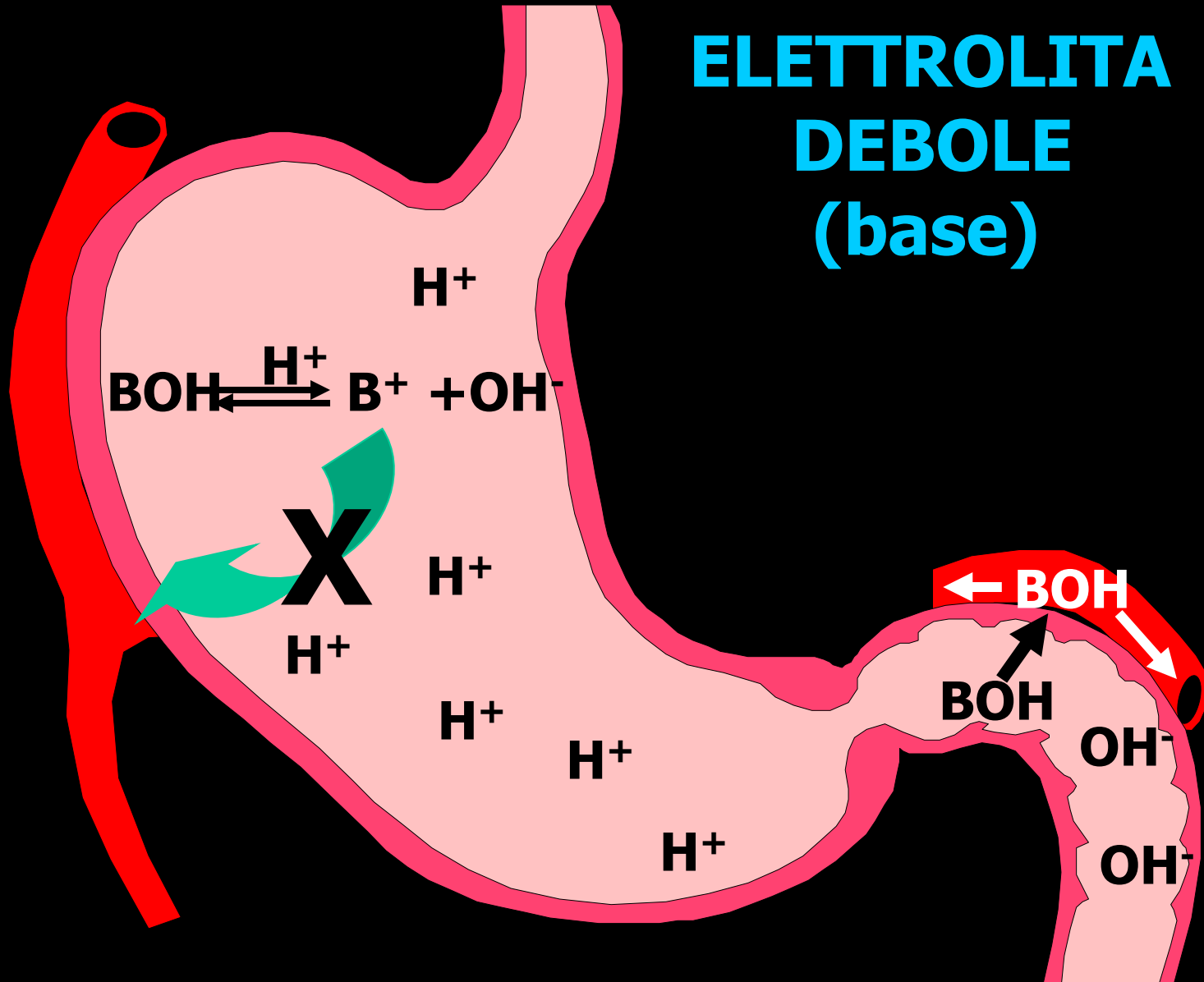


ECVPT



FARMACO

**ELETTROLITA
DEBOLE
(base)**



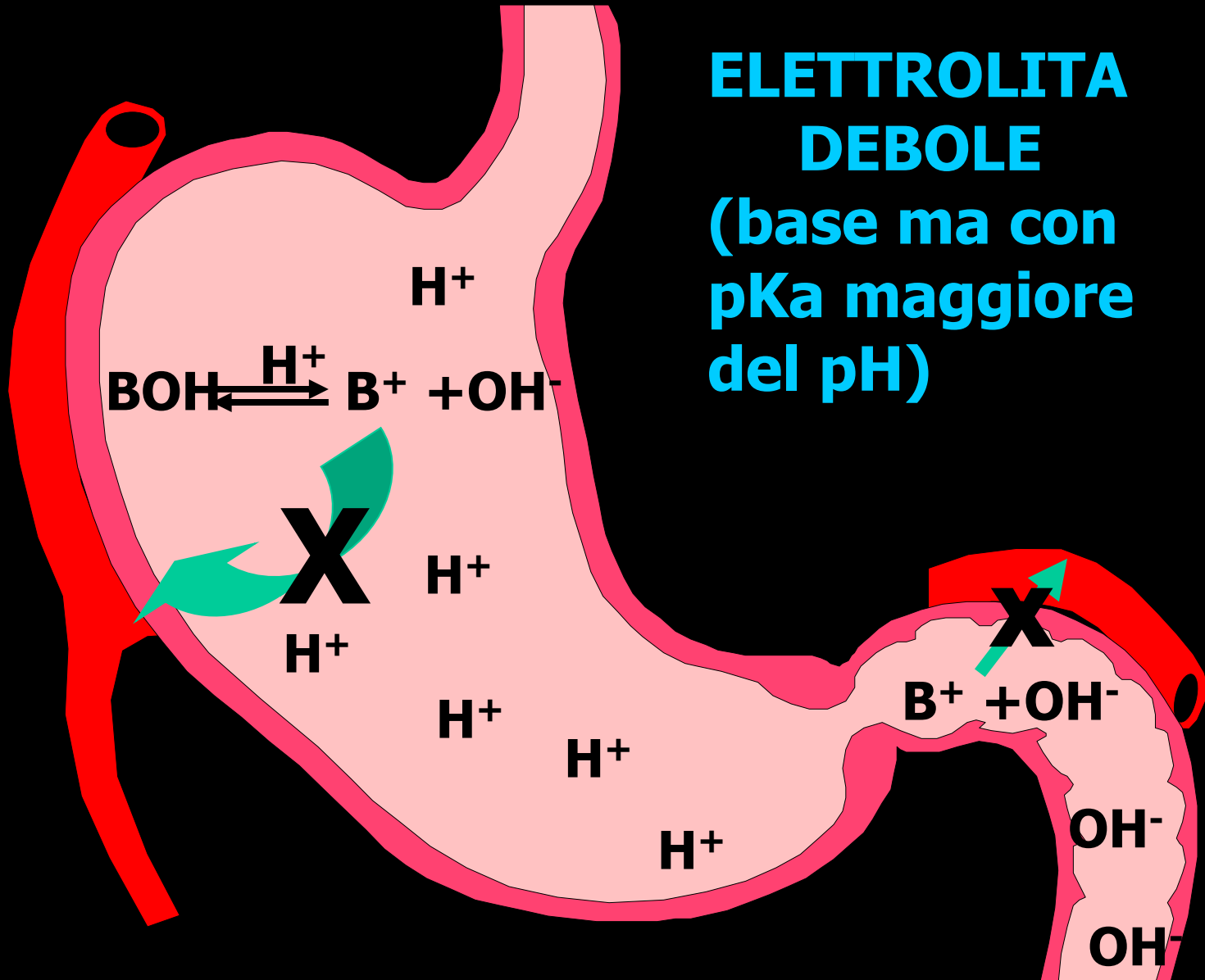


ECVPT



COLISTINA

**ELETTROLITA
DEBOLE
(base ma con
pKa maggiore
del pH)**





ECVPT

COLISTINA

Questo significa che quando somministrata per via parenterale si comporta allo stesso modo (pH 7.2-7.4 → dissociazione) rimanendo confinata a livello del plasma e del comparto interstiziale = Vd basso (0.3 L/Kg circa)

Il legame farmaco proteico è basso (<50%)



ECVPT

COLISTINA

La metabolizzazione epatica è praticamente nulla e l'eliminazione quasi totalmente per via renale in forma immodificata





ECVPT

COLISTINA

La colistina è un antibiotico polipeptidico, dotato di azione battericida nei confronti di numerosi batteri Gram negativi, tra cui *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus* e *Neisseria* risultano frequentemente resistenti



COLISTINA

Le polimixine agiscono principalmente sulla parete batterica dei germi Gram negativi provocando una rapida variazione della permeabilità della membrana plasmatica che conduce in ultima analisi alla lisi batterica

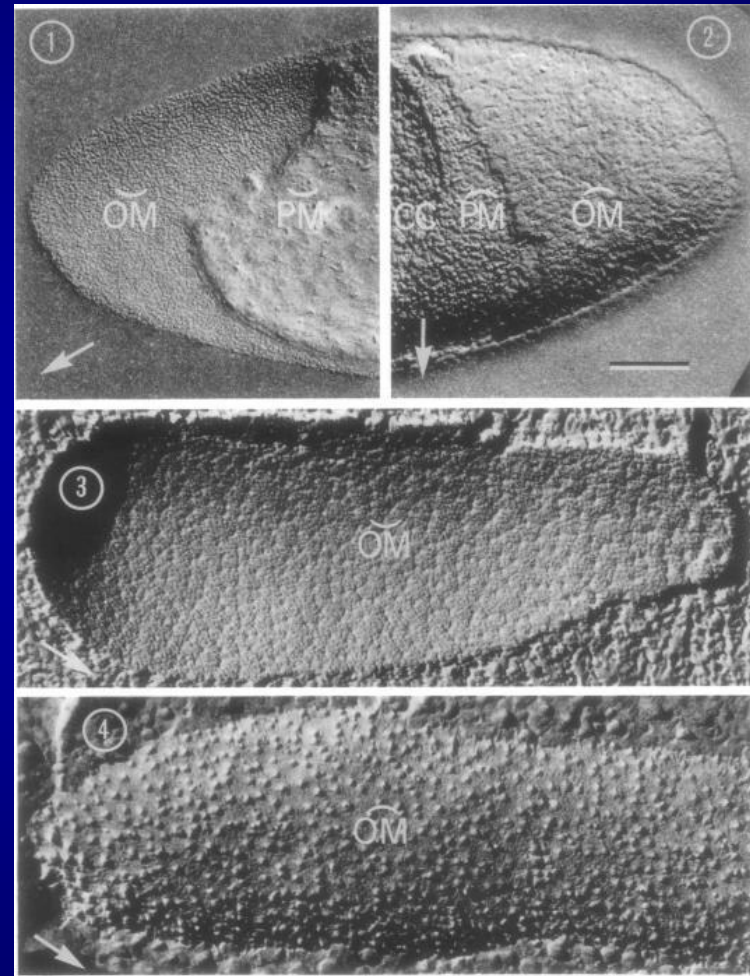
La polimixina B interagisce elettrostaticamente con la membrana esterna dei batteri Gram negativi e spiazzava competitivamente i cationi divalenti (calcio e magnesio) dai gruppi fosfato carichi negativamente presenti nei fosfolipidi di membrana



ECVPT

COLISTINA

L'inserimento della molecola di antibiotico provoca effetti lesivi sulla della membrana e il rilascio del lipopolisaccaride. Questo effetto è dimostrato da immagini ottenute con il microscopio elettronico in cui è possibile osservare, in presenza di polimixina, la comparsa di vescicolazioni sulla superficie della membrana. L'aumento delle concentrazioni di polimixina porta all'aumento della permeabilità della membrana, ed alla lisi della cellula batterica.





ECVPT

COLISTINA

Un'altra azione caratteristica della colistina riguarda il suo **potenziale effetto anti-endotossico** dovuto alla capacità di neutralizzare i lipolisaccaridi batterici, principali responsabili della comparsa di endotossiemia. L'interazione di queste molecole di natura batterica con i macrofagi dell'organismo ospite provoca un massivo rilascio di citochine, tra cui TNF- α e ILs i cui livelli ematici risultano particolarmente elevati in corso di endotossiemia. Quest'azione può essere sfruttata, somministrando l'antibiotico per via parenterale, nel caso di sepsi e conseguente endotossiemia sviluppate in seguito ad infezione sostenuta da batteri Gram negativi.

COLISTINA

Tabella 6. Concentrazione sierica di colistina ($\mu\text{g/ml}$) in seguito a somministrazione E.V.. ed orale (media S.E.M.).

Somministrazione singola			Somministrazione orale ripetuta attraverso l'acqua di bevanda	
Tempo	E.V.	OS		
(h)	5 mg/kg	50 mg/kg	Tempo (giorni)	50 mg/L
0,25	21,28 2,87	NS	1	0,73 0,15
0,5	13,06 1,26	6,02 0,40	2	1,30 0,24
1	8,16 0,89	3,29 0,98	3	1,55 0,21
1,5	6,50 0,57	NS	4	2,09 0,22
2	4,78 0,44	2,34 0,58	5	1,42 0,32
4	2,84 0,47	1,95 0,32		
6	1,46	1,54 0,22		



ECVPT

COLISTINA

La colistina, come tutti gli antibiotici del gruppo delle polimixine, in seguito a somministrazione per via orale viene scarsamente o per nulla assorbita e per questa ragione è dotata di bassissima tossicità. Al contrario, in seguito a somministrazione per via parenterale la colistina presenta attività nefrotossica e neurotossica

COLISTINA

La tossicità renale si manifesta con nefrosi tubulare acuta accompagnata da riduzione della clearance della creatinina e aumento dei livelli sierici di creatinina e urea. L'incidenza della comparsa di nefrotossicità è stata valutata nel corso di diversi studi e varia dal 14.3 al 20.2%

Mantova 22 giugno 2012



ECVPT



GRAZIE PER L'ATTENZIONE