

Desarrollo de una estrategia terapéutica basada en combinaciones de sistemas poliméricos asociados a antibióticos para el tratamiento de infecciones intramamarias en bovinos

Año
2017

Autor
Breser, María Laura

Este documento está disponible para su consulta y descarga en el portal on line de la Biblioteca Central "Vicerrector Ricardo Alberto Podestá", en el Repositorio Institucional de la **Universidad Nacional de Villa María**.

CITA SUGERIDA

Breser, M.L.; [et al.] (2017). *Desarrollo de una estrategia terapéutica basada en combinaciones de sistemas poliméricos asociados a antibióticos para el tratamiento de infecciones intramamarias en bovinos*. Villa María: Universidad Nacional de Villa María



Desarrollo de una estrategia terapéutica basada en combinaciones de sistemas poliméricos asociados a antibióticos para el tratamiento de infecciones intramamarias en bovinos.

Director: BRESER María Laura

Integrantes: ORELLANO María Soledad, CONESA Agustín, SAÍNO Verónica, FALCÓN Cristian Roberto, BIANCO Ismael Dario.

Informes Académico

Durante el primer año del proyecto se ha trabajado en con el polímero Quitosano (Qs), en forma nativa y nanoestructurada. Se esta ha trabajado en el proceso de optimización y escalamiento a nivel laboratorio de la síntesis de nanopartículas de Qs (NPs-Qs), para luego comparar la actividad antimicrobiana con el Qs nativo. Para ello se han realizado ensayos en los que se evaluó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) y Concentración Bactericida Mínima (CBM) de las NPs-Qs y del Qs nativo frente a diferentes bacterias del género *Staphylococcus* aislados de mastitis bovina clínica. En resultados obtenidos en el laboratorio, hemos observado que las NPs-Qs mostraron un importante efecto bactericida sobre bacterias aisladas de mastitis bovina clínica y crónica. Dicho efecto se obtuvo en concentraciones 8 veces menores al Qs nativo.

Por otro lado, con el fin de determinar la resistencia antibiótica que presentaban los aislamientos, se realizó el antibiograma en disco para ampicilina, penicilina, cefoxitina, eritromicina, rifampicina y lincomicina. Los aislamientos clínicos y crónicos de los establecimientos de la cuenca de Villa María presentaron un 85% de resistencia a la penicilina (6/7), 71% a la eritromicina (5/7), 57% a la ampicilina (4/7), 57% a la lincomicina (4/7), 14% a la rifampicina (1/7), mientras que el 42% presentó resistencia a la metilicina a través del uso de discos de cefoxitina. Por otro lado hemos observado que entre los aislamientos crónicos el 85% presento resistencia a 2 o más, 71% presentó resistencia a 3 o más antibióticos y el 57% a 4 o más antibióticos con diferentes mecanismos de acción. En base a resultados previos obtenidos por el grupo, donde se ha reportado que los aislamientos de bovinos provenientes de mastitis clínicas y crónicas crecen en biofilms, se ha propuesto determinar si esta forma de crecimiento puede ser considerado un factor de virulencia asociado a la resistencia antibiótica. Para ello se han llevado a cabo ensayos para determinar la CIM y CBM de diferentes antibióticos frente a cultivos de crecimiento plantónicos y frente a biopelículas preformados. Los datos obtenidos en el laboratorio han mostrado que las biopelículas representan un importante factor de

virulencia, ya que para eliminar bacterias que crecen dentro de las matrices de las biopelículas se necesita entre 16 a 64 veces más concentración de antibióticos que frente a cultivos crecidos en forma libre o plantónicas. En el presente proyecto nos hemos enfocado en la búsqueda de compuestos naturales con capacidad antimicrobiana y antibiofilms que puedan ser incorporados en una formulación para el tratamiento y prevención de infecciones durante el periodo de secado. Para ello se propuesto incorporar al uso de la terapia antibiótica convencional, el agregado de Qs, un polímero natural de amplio espectro antimicrobiano, con el fin de determinar si mejora la eficiencia de la terapia antibiótica. Los resultados obtenidos mediante el tratamiento combinado de diferentes antibióticos y Qs, han demostrado que la incorporación de Qs a la terapia antibiótica, no solo mejora la eficacia del antibiótico frente a cultivos plantónicos, sino frente a biofilms preformados de las mismas. Considerando que el diseño está orientado a una formulación de administración intramamaria, se han realizado experimentos con el fin de determinar citotoxicidad de las diferentes combinaciones de los diferentes antibióticos y Qs ensayadas sobre una línea celular de epitelio mamario bovino (MAC-T). Los resultados obtenidos han mostrado que las líneas celulares MAC-T no redujeron la viabilidad celular luego de ser cultivadas por 48 horas en presencia de las diferentes combinaciones de Qs, diferentes antibióticos y combinaciones de los mismos, sugiriendo que las mismas podrían ser utilizadas dentro del tejido mamario sin presentar toxicidad celular.

Los resultados obtenidos han demostrado que la combinación entre diferentes antibióticos de uso veterinario y el polisacárido Qs mejoran significativamente la eficiencia terapéutica de cada antibiótico y el Qs por sí solos, sugiriendo que esta combinación podría un ser de gran interés terapéutico para las formulaciones orientadas al tratamiento y prevención de la mastitis bovina.

Las actividades previstas para el primer año han sido desarrolladas en forma satisfactoria y han dado lugar a la formación de recursos humanos de grado y posgrado de diferentes integrantes del equipo. Los resultados obtenidos fueron presentados en Congresos Nacionales e Internacionales afines a la temática.

XXIII Congreso Latinoamericano de Microbiología-XIV Congreso Argentino de Microbiología. Rosario, Santa Fe, Argentina. Septiembre 2016. Publicado en libro de resúmenes on-line. <http://www.alamcam2016.aam.org.ar/descarga/LibroCAMALAM2016.pdf>

1. "Estudio de la actividad antimicrobiana de nanopartículas de quitosano sobre *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus xylosum* para uso en el tratamiento de mastitis bovina". Autores: Orellano MS; Isaac P, Bohl LP, Bresler ML, Falcone RD, Porporatto C.

2. "Formación de biofilm por distintas especies de *Staphylococcus coagulans* negativos aislados de animales con mastitis bovina". Autores: Conesa, A; Raspanti, CG; Bohl, LP; Isaac, P; Felipe, V; Bonetto, CC; Bogni, CI; Morgante, CA; Odierno, L; Porporatto, C.

LXI Reunión anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica (SAIC)- LXIV reunión anual de la Sociedad Argentina de Inmunología (SAI)-XLVIII reunión anual de la Sociedad Argentina de Farmacología Experimental (SAFE). Mar del Plata. Argentina. 2016. Resúmenes publicados en Revista Medicina Vol. 76.Supl. 1. ISSN 1669-9106.

1. "Chitosan enhances the antimicrobial effect of cloxacillin against *Staphylococcus* spp. isolated from chronic bovine mastitis". Autores: Bresler ML; Felipe VE, Orellano MS, Bohl LP, Conesa A, Isaac P, Porporatto C.

2. Planktonic and biofilm lifestyles: setup and preliminary results of a methodology to study the interactions of microorganisms in a bovine mastitis in vitro model". Autores: Bohl LP, Lerda E, Conesa A, Isaac P, Bresler ML, Valle J, Tolosa de Talamoni N, Porporatto C.

3. "Antimicrobial and cell viability measurement of chitosan nanoparticles to be applied as therapy in bovine mastitis." Autores: Orellano MS, Bohl LP, Isaac P, Bresler ML, Falcone RD; Porporatto C.

Vinculación científica relevante

Los vínculos generados a través del proyecto se han reflejado en diferentes colaboraciones con grupos de investigación de otras Universidades Nacionales. Dentro de este marco se ha trabajado en colaboración con diferentes grupos de investigación de la Universidad Nacional de Río Cuarto y Universidad Nacional de Córdoba.