

Efecto del Surfacen[®], surfactante pulmonar, en la actividad antimicrobiana de cefotaxima y amikacina

Effect Of Surfacen[®], Pulmonary Surfactant, On The Antimicrobial Activity Of Cefotaxime And Amikacin

Yuliannis Lugones Ladrón de Guevara^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-8467-4736>

Rebeca Pérez Collado¹ <https://orcid.org/0000-0002-2439-1937>

Andrés Morilla Guzmán² <https://orcid.org/0000-0002-4796-1752>

Ivette Espinosa Castaño¹ <https://orcid.org/0000-0002-8932-7047>

Odalys Blanco Hidalgo¹ <https://orcid.org/0000-0002-8947-9251>

¹Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

²Universidad de Ciencias Médicas de La Habana, Hospital Materno Infantil Dr. Ángel Arturo Aballí. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: yuliannis@censa.edu.cu

RESUMEN

Introducción: La eficacia de los antibióticos en enfermedades respiratorias es debatida, debido a que falla en alcanzar el área pulmonar infectada. El surfactante pulmonar es considerado un transportador de medicamentos debido a sus propiedades biofísicas.

Objetivo: Evaluar el efecto de Surfacen[®] en la actividad de la cefotaxima y la amikacina frente a cepas asociadas a enfermedades respiratorias *in vitro*.

Métodos: La actividad antibacteriana de cefotaxima y amikacina solos o combinados con Surfacen[®], se evaluó *in vitro* mediante la curva de letalidad en el tiempo de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*,

por el método de suspensión cuantitativa por dilución y conteo. Las definiciones estándar de sinergia, antagonismo o indiferencia se usaron para evaluar el efecto de Surfacen® en la actividad de los antibióticos.

Resultados: El Surfacen® no afecta la actividad antibacteriana de la cefotaxima o la aumenta al obtener un sinergismo a la concentración de 16 µg/mL para *Staphylococcus aureus* y a las concentraciones de 8 y 16 µg/mL para *Pseudomona aeruginosa*. En el caso de la amikacina si bien mostró indiferencia también se observó antagonismo, lo que es característico de los aminoglucósidos en presencia de surfactante pulmonar.

Conclusiones: El efecto de Surfacen® en la actividad antibiótica fue investigado. Cuando se combina la cefotaxima con Surfacen® no se afecta su actividad, sin embargo, la actividad de la amikacina se vio afectada, mostrando un comportamiento dual dependiente de la concentración. Este estudio contribuirá en el futuro al empleo de Surfacen® como vehículo para el suministro de antibióticos al pulmón.

Palabras claves: surfactante pulmonar exógeno; antibiótico; Surfacen®; transportador de medicamentos; Cuba.

ABSTRACT

Introduction: The efficacy of antibiotics in respiratory diseases is debated, because it fails to reach the infected lung area. Pulmonary surfactant is considered a drug transporter due to its biophysical properties.

Objective: To evaluate the effect of Surfacen® on the activity of cefotaxime and amikacin against strains associated with *in vitro* respiratory diseases.

Methods: The antibacterial activity of cefotaxime and amikacin alone or combined with Surfacen® was evaluated *in vitro* using the lethality curve over time of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomona aeruginosa*, by the method of quantitative suspension by dilution and counting. Standard definitions of synergy, antagonism or indifference were used to assess the effect of Surfacen® on antibiotic activity.

Results: Surfacen does® not affect the antibacterial activity of cefotaxime or increases it by obtaining a synergism at the concentration of 16 µg/mL for *Staphylococcus aureus* and at concentrations of 8 and 16 µg/mL for *Pseudomona aeruginosa*. In the case of amikacin, although it showed indifference, antagonism was also observed, which is characteristic of aminoglycosides in the presence of pulmonary surfactant.

Conclusions: The effect of Surfacen® on antibiotic activity was investigated. When cefotaxime is combined with Surfacen® its activity is not affected, however, the activity of amikacin was affected, showing a dual behavior dependent on concentration. This study will contribute in the future to the use of Surfacen® as a vehicle for the supply of antibiotics to the lung.

Keywords: exogenous pulmonary surfactant; antibiotic; Surfacen®; drug transporter; Cuba.

Recibido: 13/01/2022

Aprobado 18/02/2022

Introducción

La eficacia terapéutica de cualquier medicamento depende de su capacidad para alcanzar su diana específica: célula, tejido u órgano. El pulmón, al poseer contacto directo con el entorno externo, permite la entrega potencialmente localizada y se convierte en un blanco atractivo para la administración de medicamentos. Sin embargo, es más difícil para las terapias que se dirigen a las áreas más profundas del mismo, en cuyo escenario la estructura de ramificación extensa y el área de superficie grande proporcionan obstáculos sustanciales para la entrega adecuada de medicamentos.⁽¹⁾ Este problema se exagera en ciertas enfermedades pulmonares en las que el líquido de edema, el colapso pulmonar, la remodelación de los tejidos y las infecciones pueden afectar aún más la accesibilidad.⁽²⁾

El surfactante pulmonar endógeno es un sistema lipoproteico producido por los neumocitos tipo II, compuesto por 80 % a 85 % de fosfolípidos, 5 % a 10% de lípidos neutros y 10 % de proteínas. Las preparaciones farmacéuticas de surfactante pulmonar de uso clínico se obtienen a partir del endógeno y conservan en gran medida su composición bioquímica.⁽³⁾ Esto le confiere propiedades biofísicas que le permiten adsorberse con muy alta eficiencia a la interfase aire-líquido y, a través de esta, viajar rápidamente a las vías aéreas distales, venciendo las barreras de la propia arquitectura del pulmón.⁽⁴⁾ Esta característica les permiten ser consideradas un vehículo potencial para la administración de fármacos por la vía inhalada, pues permite la apertura de regiones inaccesibles del pulmón a los agentes terapéuticos, logrando niveles altos mientras que reducen al mínimo los efectos secundarios sistémicos del fármaco instilado.

En la neumonía neonatal y en las infecciones adquiridas por la ventilación mecánica, así como en otras infecciones de las vías aéreas distales, la aplicación directa de antibióticos a las vías respiratorias ofrece muchas ventajas potenciales en su tratamiento y prevención.⁽⁵⁾ Este suministro directo debe aumentar la efectividad local y reducir el riesgo de la toxicidad sistémica, sin embargo, la eficacia de la administración de dosis altas de antibiótico es aún debatida, infiriendo la falla del antibiótico para alcanzar el área pulmonar infectada.^(6, 7, 8, 9, 10)

Una estrategia que puede superar estos retos es el empleo de estas preparaciones de surfactante como un vehículo o transportador de antimicrobianos, lo que representa una modalidad terapéutica promisoriosa que se investiga en la actualidad antes de implementarse en la práctica clínica.^(11, 12, 13) Estas investigaciones brindan información de la importancia de examinar cuidadosamente las alteraciones que puedan ocurrir al combinar los antibióticos con las preparaciones de surfactante pulmonar, en la actividad de ambos. En este sentido existen resultados donde la actividad antibiótica se ha observado afectada en presencia del surfactante pulmonar.^(14, 15)

El Surfacen[®] es un surfactante natural, producido en Cuba y utilizado en las unidades de terapias intensivas del país donde ha demostrado que es seguro y

eficaz en el síndrome de dificultad respiratoria en neonatos pretérminos, en pacientes pediátricos y adultos; sus excelentes propiedades biofísicas lo hacen un candidato atractivo para su empleo como transportador de antimicrobianos.^(16, 17, 18, 19) Su efecto en la actividad de los antibióticos no se ha evaluado.

En este estudio se seleccionaron dos antibióticos útiles en el tratamiento de enfermedades infecciosas respiratorias, diferentes en su mecanismo de acción (beta-lactámico y aminoglucósido) que actúan tanto frente a bacterias gram positivas (*Staphylococcus aureus*) como gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*), las cuales se encuentran comúnmente asociadas a estas enfermedades.^(20, 21, 22, 23)

Para la investigación *in vitro* de las interacciones entre compuestos con actividad antibacteriana se proponen cuatro aproximaciones microbiológicas primarias: el método del tablero de damas, la concentración mínima bactericida, los e-test y las curvas de muerte o letalidad.⁽²⁴⁾ Estos métodos varían en su complejidad de ejecución y en los criterios para la interpretación, actualmente las curvas de muerte se consideran el método de referencia estándar para la determinación de la sinergia entre los agentes antimicrobianos.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de Surfacen® en la actividad de la cefotaxima y la amikacina frente a cepas asociadas a enfermedades respiratorias *in vitro*.

Materiales y métodos

La actividad antibacteriana de cefotaxima y amikacina solos o combinados con Surfacen®, se evaluó *in vitro* mediante el estudio de la curva de letalidad en el tiempo de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*, por el método de suspensión cuantitativa por dilución y conteo.

Cepas

Staphylococcus aureus ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

Surfacen®

Surfactante natural obtenido a partir de lavado pulmonar porcino, previa extracción con cloroformo: metanol (2:1 v/v). Se presenta en forma de liofilizado estéril de color blanco, con la siguiente composición: 50 mg de fosfolípidos, 0,3 mg a 0,7 mg de proteínas hidrófobas, 2,03 mg a 3,03 mg de otros lípidos y 18 mg de cloruro de sodio.⁽²⁵⁾ Surfacen® se produce por el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Mayabeque, Cuba. Para su reconstitución se resuspendió en agua destilada estéril y se preparó a una concentración de 15 mg/mL.

Antibióticos

La cefotaxima y amikacina (Sigma_Aldrich) se prepararon diluyendo en agua para inyección hasta obtener una solución de 100 mg/mL y se almacenó a -20°C en pequeñas alícuotas. Para cada experimento se utilizó una alícuota fresca y se diluyó en medio de cultivo para obtener las concentraciones apropiadas. El rango de concentraciones empleadas para cada combinación antibiótico-microorganismo fue: cefotaxima: *Staphylococcus aureus* (4-32 µg/mL), *Escherichia coli* (0,1-2 µg/mL) y *Pseudomona aeruginosa* (2-16 µg/mL). Para amikacina se empleó el siguiente rango de concentraciones: *Staphylococcus aureus* (2-16 µg/mL), *Escherichia coli* (1-16 µg/mL) y *Pseudomona aeruginosa* (2-16 µg/mL). Los rangos de valores de concentración para cada antibiótico se seleccionaron acorde a la concentración mínima inhibitoria (CMI) según criterios del *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.⁽²⁶⁾

Determinación de las curvas de letalidad de cefotaxima y amikacina por el método de suspensión cuantitativa por dilución y conteo

Para la evaluación del efecto de Surfacen® en la actividad antibacteriana de cefotaxima y amikacina se utilizaron las curvas de letalidad a los tiempos de cuatro y 24 horas por el método de suspensión cuantitativa por dilución y conteo. Se utilizaron cultivos de cada cepa en caldo Mueller-Hinton (Oxoid Ltd, United Kingdom) de 18 a 24 horas de incubación a 37 °C con agitación. Se realizó el

método directo para ajustar la concentración equivalente al patrón 0,5 de la escala Mac Farland (10^8 UFC/mL), con solución de cloruro de sodio al 0,9 %. Posteriormente se realizaron diluciones 1/10 para obtener la densidad de inóculo requerido y equivalente a un rango de concentración 10^5 UFC/mL a 10^6 UFC/mL. La densidad bacteriana se verificó mediante el conteo de UFC/mL.

Posterior a los tiempos de 4 horas y 24 horas de incubación a 37 °C se determinó la concentración celular mediante el conteo de las UFC, se obtuvieron alícuotas de 0,1 mL de cada cultivo, se realizaron diluciones seriadas 1/10 en solución de cloruro de sodio al 0,9 % y se sembró una alícuota de cada dilución en placas de agar suplementado de sangre de oveja al 5 % (Biocen, Mayabeque, Cuba). Se realizaron tres determinaciones independientes. Los valores de UFC se estimaron multiplicando este valor obtenido por placa, por el factor de la dilución seriada correspondiente. Los datos se expresaron como la media del logaritmo en base 10 de las UFC (log UFC/mL) (media \pm DS).

En cada experimento se determinó la concentración mínima bactericida de los antibióticos para lo cual se consideró como criterio la reducción de 99,9 % (3log) de la concentración inicial del inóculo empleado en el ensayo. Para clasificar la interacción entre el Surfacen® y los antibióticos se consideraron los siguientes criterios: sinergia (S) cuando ocurrió una disminución mayor o igual a 2log UFC/mL, aditividad o indiferencia (I) un cambio de 10 veces o un cambio de 1log UFC/mL y antagonismo (A) en presencia de un incremento mayor o igual a 2log UFC/mL para la combinación Surfacen®/antibiótico comparada con el agente simple.⁽²⁴⁾

Resultados

Las figuras 1 y 2 muestran los resultados de las curvas de letalidad para todas las combinaciones ensayadas. En ausencia de antibiótico y Surfacen® los conteos bacterianos obtenidos después de la incubación por 24 horas en el medio de cultivo Muller Hinton se mantuvieron en un rango de $8 \pm \log$ UFC/mL a $9 \pm \log$ UFC/mL para las tres especies de bacterias estudiadas. Los antibióticos cefotaxima y amikacina demostraron eficacia contra las cepas estudiadas al

permitir un descenso de la carga microbiana inicial, en algunas de las concentraciones ensayadas.

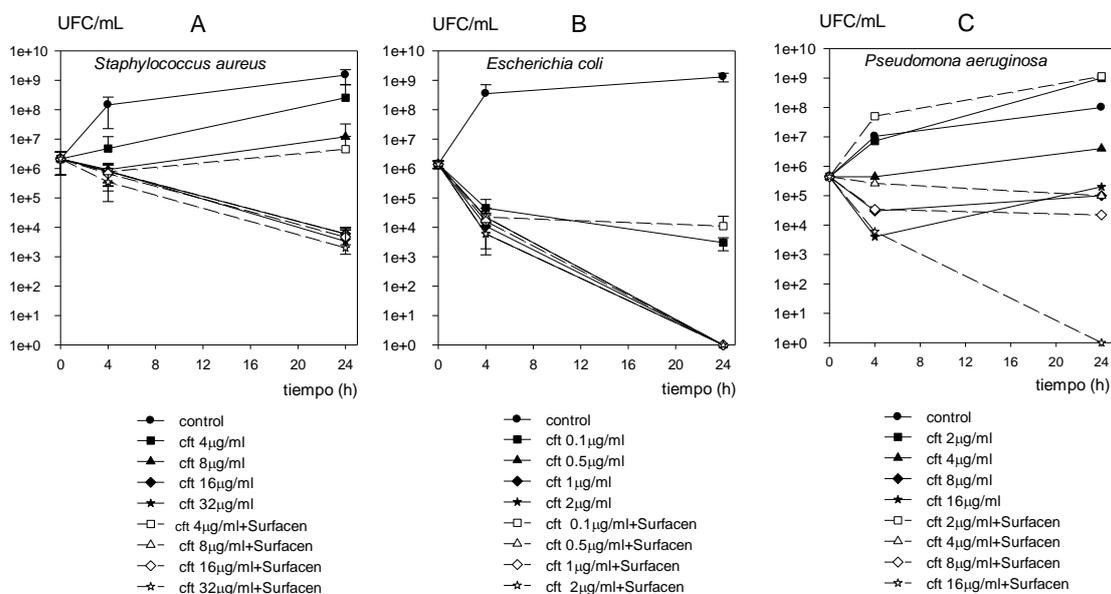


Fig. 1. Curvas de letalidad en el tiempo para la cefotaxima (CFT) en ausencia y presencia de Surfacten. El conteo bacteriano medio (\pm DS) al tiempo cero y después de cuatro y 24 horas son mostrados como UFC/mL de tres experimentos independientes. a) *Staphylococcus aureus*. b) *Escherichia coli*. c) *Pseudomona aeruginosa*.

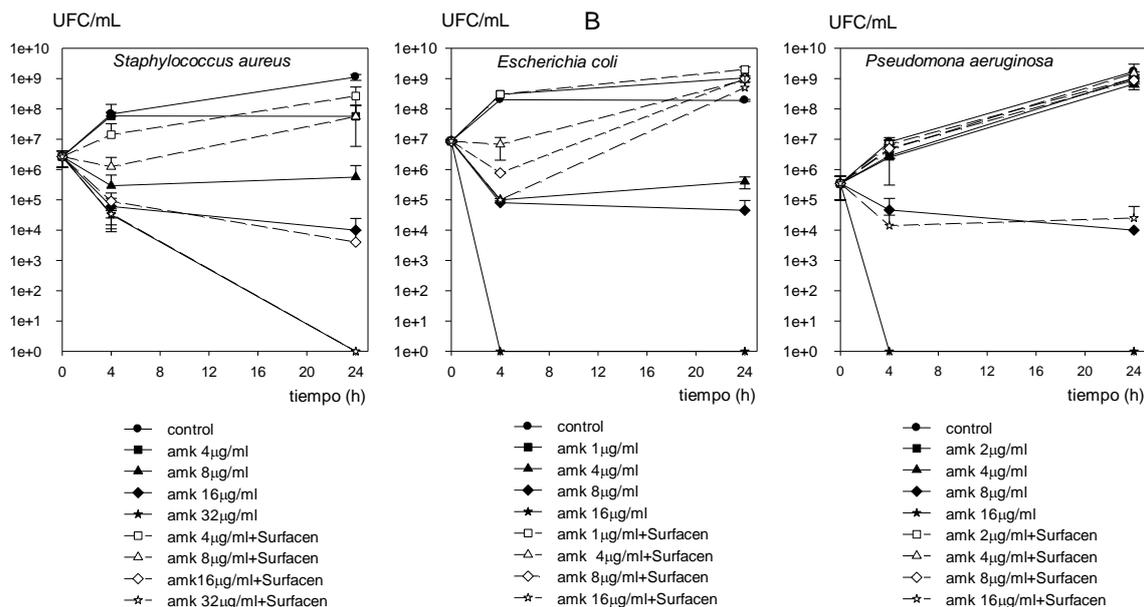


Fig. 2. Curvas de letalidad en el tiempo para la amikacina (AMK) en ausencia y presencia de Surfacen®. El conteo bacteriano medio (\pm DS) al tiempo cero y después de cuatro y 24 h son mostrados como UFC/mL de tres experimentos independientes. a) *Staphylococcus aureus*. b) *Escherichia coli*. c) *Pseudomonas aeruginosa*.

Las concentraciones 4 µg/mL y 8 µg/mL de cefotaxima no inhibieron el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, mientras 16 µg/mL y 32 µg/mL inhibieron el crecimiento en 3log UFC/mL a las 24 horas. Las combinaciones de Sufacen con 8 µg/mL, 16 µg/mL y 32 µg/mL de cefotaxima mostraron un efecto bactericida para *Staphylococcus aureus* a las 24 horas al provocar una reducción del 99,9 % del inóculo inicial (Fig. 1 a). Todas las concentraciones de cefotaxima evaluadas contra *Escherichia coli* inhibieron su crecimiento, pero 1 µg/mL y 2 µg/mL provocaron la erradicación total a las 24 horas, de manera similar ocurrió en presencia de Surfacen® (Fig. 1 b).

Para *Pseudomonas aeruginosa* la actividad inhibitoria de la cefotaxima en las concentraciones evaluadas fue inferior con respecto a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. En presencia de 8 µg/mL la cefotaxima redujo el crecimiento del inóculo inicial en 2log UFC/mL con respecto al control, pero a las 24 horas mostró

un efecto bacteriostático, pues el crecimiento se mantuvo cercano al conteo inicial. En presencia de 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se obtuvo una reducción del crecimiento equivalente a 3log UFC/mL a las 4 horas, observándose un recrecimiento a las 24 horas; sin embargo, a esa misma concentración se logró la erradicación total a las 24 horas cuando el antibiótico se combinó con el Surfacen® (Fig. 1 c).

La figura 2 describe el comportamiento para la amikacina sola y en combinación con el Surfacen® en las tres especies de bacterias. La reducción de la carga bacteriana inicial de *Staphylococcus aureus* en un 99,9 % se alcanzó para la concentración de 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a las 24 horas, lo que coincide con la erradicación total de la bacteria. En presencia del surfactante y amikacina, las células de *Staphylococcus aureus* mostraron un aumento en 2log a las concentraciones de 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a las 4 horas. Este comportamiento se mantuvo a las 24 horas, pero solo para 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mientras que las concentraciones 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de amikacina en presencia de Surfacen® permitieron una carga de células similar, en el orden de 10^4 a las 4 horas; a las 24 horas en presencia o ausencia de Surfacen®, 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de amikacina alcanzó un efecto bactericida total (Fig. 2 a). Respecto a *Escherichia coli*, la concentración de 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de amikacina redujo el crecimiento en 2log UFC/mL a las cuatro horas, mientras con 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se erradicó totalmente el cultivo. Sin embargo, en presencia de Surfacen® y 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de amikacina a las cuatro horas y todas las concentraciones ensayadas a las 24 horas, excepto 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, la actividad inhibitoria de este fármaco sobre *Escherichia coli* fue inferior (Fig. 2 b). La actividad de amikacina sobre *Pseudomonas aeruginosa* presentó un comportamiento similar al descrito para *Escherichia coli* y caracterizado por la erradicación de la carga inicial de la bacteria con 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a las 4 horas. Mientras en presencia de Surfacen® a las concentraciones de 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se observó un aumento en el número de UFC a 4 y 24 horas. La tabla 1 resume los resultados de la clasificación de las interacciones antibiótico y surfactante acorde a los datos de las curvas de letalidad. La combinación del surfactante con cefotaxima no afectó su actividad sobre *Staphylococcus aureus*. La presencia de Surfacen® en las concentraciones 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ mostró indiferencia o aditividad en el 100 % de los casos ensayados. Sin embargo,

la combinación de cefotaxima 16 µg/mL con el surfactante mostró sinergia con respecto al compuesto por sí solo a esta concentración, al disminuir en mayor o igual a $2\log_{10}$ UFC/mL a las 24 horas en dos de los casos (Tabla 1, Fig. 1 a).

Tabla 1. Resultados de la sinergia en curvas de letalidad de las combinaciones cefotaxima-Surfacen® y amikacina-Surfacen® sobre las cepas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Cepa y concentración antibiótico (µg/mL)	Sinergia de curva de letalidad	
	Cefotaxima + Surfacen®	Amikacina + Surfacen®
<i>Staphylococcus aureus</i>		
4	I (100 % casos)	A, I (50 % casos)
8	I (67 % casos)	I (100 % casos)
16	S (67 % casos)	I (100 % casos)
32	I (100 % casos)	I (100 % casos)
<i>Escherichia coli</i>		
Cefatoxima/amikacina		
0,1 /1	I (100 % casos)	I (100 % casos)
0,5 /4	I (100 % casos)	A, I (50 % casos)
1 /8	I (100 % casos)	I (100 % casos)
2/16	I (100 % casos)	A (100 % casos)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
2	I (100 % casos)	A, I (50% casos)
4	I (100 % casos)	I (100% casos)
8	S (100 % casos)	A (100% casos)
16	S (100 % casos)	A (100 % casos)

I: Indiferencia. S: Sinergia. A: Antagonismo.

El efecto de la cefotaxima en *Pseudomona aeruginosa* no fue afectado cuando se combinó con Surfacen®; la combinación Surfacen® con cefotaxima a las concentraciones de 2 µg/mL y 4 µg/mL mostró indiferencia o aditividad en el 100 % de los casos. En el caso de *Escherichia coli*, la combinación del Surfacen® con cefotaxima tampoco afectó la actividad bactericida de este antibiótico, clasificando la interacción de indiferencia o aditividad en todas las concentraciones y en el 100% de los casos (Tabla 1, Fig. 1 b). El crecimiento de

Pseudomona aeruginosa fue afectado sinérgicamente, a las concentraciones de cefotaxima de 8 µg/mL y 16 µg/mL en el 100 % de los casos (Tabla 1, Fig. 1 c).

A su vez el efecto de Surfacen® en la actividad inhibitoria de la amikacina sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* también se estudió a las 4 y 24 horas de incubación *in vitro* (Fig. 2). La presencia de Surfacen® en las concentraciones 8 µg/mL, 16 µg/mL y 32 µg/mL de amikacina mostró indiferencia o aditividad en el 100 % de los casos en *Staphylococcus aureus*. En el caso de la concentración más baja ensayada, 4 µg/mL combinado con Surfacen®, mostró antagonismo o indiferencia en igualdad de casos (50 %) (Tabla 1, Fig. 2 a). En el caso de *Escherichia coli* la combinación Surfacen® con amikacina mostró indiferencia a las concentraciones 1 µg/mL y 8 µg/mL, en 4 µg/mL se observó la misma cantidad de casos indiferentes y antagónicos y a la concentración de 16 µg/mL el efecto fue antagónico en su totalidad (Tabla 1, Fig. 2 b).

El efecto de la amikacina sobre el crecimiento de *Pseudomona aeruginosa* cuando se combinó con Surfacen® mostró antagonismo o indiferencia en igualdad de casos (50 %) a la menor concentración de 2 µg/mL. A la concentración de 4 µg/mL se observó indiferencia o aditividad en el 100 % de los casos, sin embargo, a 8 µg/mL y 16 µg/mL se evidenció un efecto antagónico en el 100 % de los casos (Tabla 1, Fig 2 c).

Discusión

La farmacología de los compuestos que actúan sobre el pulmón es diferente con respecto a la acción sobre otros órganos y esta diferencia puede afectar la eficacia de los antibióticos en el tratamiento de la neumonía. En la mayoría de las enfermedades pulmonares, como el asma, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y la fibrosis quística, los mecanismos de defensa del tracto respiratorio no funcionan adecuadamente, resultando fácil para los microorganismos que colonizan el parénquima pulmonar proliferar y causar infección.⁽²⁷⁾ Si los antibióticos se administran localmente es posible que alcancen

concentraciones más altas en este sitio diana y aumenten el control local de la infección.⁽²⁸⁾

Las curvas de muerte de cefotaxima (betalactámico) para los tres microorganismos ensayados mostraron la actividad bactericida dependiente del tiempo de contacto de la droga con la bacteria. Mientras la amikacina (aminoglucósido) reveló una actividad bactericida dependiente de la concentración, la tasa de destrucción de las bacterias incrementó con el aumento de la concentración de la droga a las 4 horas. Ambos antibióticos mostraron una actividad bacteriostática caracterizada por la disminución del crecimiento a las 4 horas y un recrecimiento a las 24 horas, similar también en presencia de Surfacen®. Esto puede deberse a la adaptación metabólica de la bacteria en presencia del antibiótico.

El estudio de la interacción mutua entre surfactante pulmonar y antibióticos *in vitro*, así como la terapia combinada de surfactante y antibióticos en modelos animales se ha informado por varios trabajos. Estos estudios se han realizado en casi todas las categorías de antibióticos (aminoglucósidos, betalactámicos, quinolonas, entre otras), utilizando diferentes preparaciones de surfactante pulmonar de uso clínico y la mayoría de los patógenos presentes en las enfermedades respiratorias infecciosas.

Las curvas de letalidad en el tiempo de amoxicilina, ceftazidima y tobramicina contra cuatro patógenos pulmonares en presencia de surfactante pulmonar revelaron una actividad reducida de la tobramicina, mientras que la actividad bactericida de la amoxicilina y ceftazidima no fue alterada. Los autores sugieren que los aminoglucósidos pueden unirse a fosfolípidos con carga negativa presente en el surfactante y demuestran que la inactivación parcial de la tobramicina puede ser compensada con una dosis mayor del antibiótico.⁽¹⁴⁾ El Surfacen® se caracteriza por un contenido alto de fosfolípidos aniónicos (fosfatidilglicerol y fosfatidilinositol) en su composición bioquímica, lo que puede justificar el comportamiento observado en presencia de amikacina.⁽¹⁹⁾

Otro estudio informa que la actividad de otros antibióticos como vancomicina, ceftriaxona y telavancina no fue afectada por el surfactante pulmonar; en contraste la actividad antibacteriana de la daptomicina fue significativamente

disminuida por el surfactante pulmonar, en una concentración dosis-dependiente.⁽¹⁵⁾ Los antibióticos linezolid, doripenem, tigeciclina, moxifloxacina y colistina fueron combinados con Curosurf, surfactante usado en la clínica, que solamente disminuyó la eficacia de la moxifloxacina y colistina, en el caso de este último, a concentraciones muy superiores a la concentración mínima inhibitoria, el efecto inhibitorio del surfactante se eliminó.⁽²⁹⁾

Birkun y otros en el 2014 demostraron que la adición de amikacina al surfactante Suzacrin, no tuvo influencia sobre su actividad antimicrobiana, mientras que la adición de cefepima mostró una tendencia a la disminución de su actividad bactericida y en el caso del colistimetato de sodio produjo un incremento de su actividad bacteriostática.⁽³⁰⁾

Los antibióticos gentamicina y ciprofloxacina al combinarse con el surfactante clínico BLES (*bovine lung extract surfactant*) mostraron una muerte bacteriana significativamente mayor contra *Pseudomona aeruginosa* en comparación con gentamicina o ciprofloxacina solas, en contraste la colistina no mostró cambios significativos en su actividad antibacteriana cuando se combinó con BLES.⁽¹²⁾ Otro estudio basado en la combinación polimixina B-Curosurf evidenció la preservación de la actividad antimicrobiana de este antibiótico.⁽³¹⁾

Estudios *in vivo* de la combinación de Suzacrin y amikacina administrados por instilación intratraqueal en ratas con una neumonía causada por *Pseudomona aeruginosa*, fue capaz de reducir la contaminación bacteriana en el tracto respiratorio, de suprimir la respuesta de granulocitos y reducir el daño inflamatorio en el tejido en comparación al empleo del antibiótico solo.⁽³²⁾ A su vez, otro estudio realizado en conejos pretérminos mostraron que la instilación intratraqueal de surfactante pulmonar y polimixina B reduce el crecimiento bacteriano en el pulmón y previene la sepsis bacteriana sin ejercer efecto negativo en la función pulmonar.⁽¹¹⁾ Basabe Burgos y otros demostraron que la actividad antimicrobiana de la polimixina E contra *Pseudomona aeruginosa in vitro* fue disminuida al combinarse con el surfactante en todas las concentraciones, sin embargo, en este mismo estudio con un modelo de neumonía *in vivo* se incrementó el efecto bactericida. Los autores sugieren que fue debido

a una distribución más eficiente del antibiótico mediado por la interacción entre el surfactante y la polimixina E, junto a la capacidad del surfactante de abrir aéreas atelectáticas influyendo favorablemente en su distribución.⁽¹³⁾

Actualmente es un motivo de preocupación cada vez mayor la propagación mundial de patógenos resistentes a múltiples drogas que ha dado lugar a una eficacia limitada de los antibióticos intravenosos disponibles para el tratamiento de la neumonía en pacientes hospitalizados y mecánicamente ventilados. Teniendo en cuenta estos elementos, los clínicos en el mundo utilizan cada vez más los antibióticos nebulizados para las infecciones respiratorias en pacientes adultos en estado crítico aunque no se dispongan de suficientes datos de seguridad y eficacia, ni de las guías de recomendaciones internacionales.⁽¹⁰⁾

Esta modalidad terapéutica necesita superar múltiples desafíos, en este sentido el índice terapéutico de los antibióticos inhalados ha aumentado con la utilización de liposomas en su formulación, cuya composición de fosfolípidos y lípidos neutros es similar a la del surfactante pulmonar, aspecto interesante a destacar.⁽¹⁰⁾ Se disponen de tres preparaciones farmacéuticas de antibióticos por vía inhalada, dos de estas corresponden a aminoglucósidos para el tratamiento de infecciones pulmonares.^(33, 34, 35) El primero nombrado Arikace[®]: contiene amikacina en una formulación liposomal de dipalmitoilfosfatidilcolina y colesterol, (amikacin, Insméd, NJ, USA). El segundo nombrado Pulmaquin[™] (ciprofloxacina, Aradigm Corp., CA, USA) contiene ciprofloxacina junto a fosfatidilcolina y colesterol en su formulación liposomal. El tercero, nombrado LipoBiEDT-TOB[™], es una formulación liposomal de tobramicina, que ha mostrado eficacia en modelos *in vivo* aunque existen datos limitados y no se cuenta con ensayos clínicos aleatorizados.⁽³⁶⁾

Los resultados de este estudio revelaron que la combinación cefotaxima y Surfacen[®] fue esencialmente indiferente para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, pues el efecto de la combinación fue similar al de los antibióticos por separado. Esta combinación mostró sinérgica para *Pseudomonas aeruginosa* debido a que el efecto resultante de la unión fue superior a la acción de los fármacos individuales. En cambio, la interacción amikacina y Surfacen[®] fue

indiferente, pero también antagónica debido a que el efecto de la combinación fue inferior al obtenido con el fármaco de forma individual, lo que está en concordancia con los estudios que anteriormente fueron mencionados donde se observó una disminución de la actividad antimicrobiana, por ejemplo, con la tobramicina que también pertenece a la familia de los aminoglucósidos. Por tanto, en primera instancia se recomienda para la combinación Surfacen® con amikacina la realización de estudios *in vivo*, teniendo en cuenta además los resultados obtenidos por Basabe et al.⁽¹³⁾ Por otra parte es pertinente ajustar dosis, lo que permite revertir la disminución de la actividad antibiótica de la amikacina en presencia de Surfacen®.

Conclusiones

El efecto de Surfacen® en la actividad antibiótica fue investigado. Cuando se combina la cefotaxima con Surfacen® no se afecta su actividad, sin embargo, la actividad de la amikacina se vio afectada, mostrando un comportamiento dual dependiente de la concentración. Este estudio contribuirá en el futuro al empleo de Surfacen® como vehículo para el suministro de antibióticos al pulmón.

Referencias bibliográficas

1. Newman SP. Drug delivery to the lungs: challenges and opportunities. Therapeutic delivery. 2017 Jul;8(8):647-661. eng. Epub 2017/07/22. DOI: <https://10.4155/tde-2017-0037>
2. Baer B, Souza LMP, Pimentel AS, Veldhuizen RAW. New insights into exogenous surfactant as a carrier of pulmonary therapeutics. Biochemical pharmacology. 2019 Jun;164:64-73. eng. Epub 2019/04/01. DOI: <https://10.1016/j.bcp.2019.03.036>
3. Blanco O, Pérez Gil J. Biochemical and pharmacological differences between preparations of exogenous natural surfactant used to treat Respiratory Distress Syndrome: role of the different components in an efficient pulmonary

- surfactant. European journal of pharmacology. 2007 Jul 30;568(1-3):1-15. eng. Epub 2007/06/05. DOI: <https://10.1016/j.ejphar.2007.04.035>
4. Hidalgo A, Cruz A, Pérez Gil J. Barrier or carrier? Pulmonary surfactant and drug delivery. European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik eV. 2015 Sep;95(Pt A):117-27. eng. Epub 2015/02/25. DOI: <https://10.1016/j.ejpb.2015.02.014>
 5. Quon BS, Goss CH, Ramsey BW. Inhaled antibiotics for lower airway infections. Annals of the American Thoracic Society. 2014 Mar;11(3):425-34. eng. Epub 2014/03/29. DOI: <https://10.1513/AnnalsATS.201311-395FR>
 6. Shetty N, Park H, Zemlyanov D, Mangal S, Bhujbal S, Zhou QT. Influence of excipients on physical and aerosolization stability of spray dried high-dose powder formulations for inhalation. International journal of pharmaceutics. 2018 Jun 10;544(1):222-234. eng. Epub 2018/04/22. DOI: <https://10.1016/j.ijpharm.2018.04.034>
 7. Khatib I, Khanal D, Ruan J, Cipolla D, Dayton F, Blanchard JD, Chan HK. Ciprofloxacin nanocrystals liposomal powders for controlled drug release via inhalation. International journal of pharmaceutics. 2019 Jul 20;566:641-651. eng. Epub 2019/06/17. DOI: <https://10.1016/j.ijpharm.2019.05.068>
 8. Ari A, Fink JB, Dhand R. Inhalation therapy in patients receiving mechanical ventilation: an update. Journal of aerosol medicine and pulmonary drug delivery. 2012 Dec;25(6):319-32. eng. Epub 2012/08/04. DOI: <https://10.1089/jamp.2011.0936>
 9. Niederman MS. Adjunctive Nebulized Antibiotics: What Is Their Place in ICU Infections? [Review]. Frontiers in Medicine. 2019 2019-May-08;6(99). English. DOI: <https://10.3389/fmed.2019.00099>
 10. Bassetti M, Vena A, Russo A, Peghin M. Inhaled Liposomal Antimicrobial Delivery in Lung Infections. Drugs. 2020 Sep;80(13):1309-1318. eng. Epub 2020/07/22. DOI: <https://10.1007/s40265-020-01359-z>
 11. Stichtenoth G, Haegerstrand-Björkman M, Walter G, Linderholm B, Herting E, Curstedt T. Comparison of Polymyxin E and Polymyxin B as an Additive to

- Pulmonary Surfactant in Escherichia coli Pneumonia of Ventilated Neonatal Rabbits. Biomedicine hub. 2017 May-Aug;2(2):1-9. eng. Epub 2017/06/24. DOI: <https://10.1159/000475877>
12. Baer B, Veldhuizen EJA, Possmayer F, Yamashita C, Veldhuizen R. The wet bridge transfer system: a novel tool to assess exogenous surfactant as a vehicle for intrapulmonary drug delivery. Discovery medicine. 2018 Nov;26(144):207-218. eng. Epub 2019/01/30. Cited in: Pubmed; PMID 30695680.
 13. Basabe Burgos O, Zebialowicz J, Stichtenoth G, Curstedt T, Bergman P, Johansson J, Rising A. Natural Derived Surfactant Preparation As a Carrier of Polymyxin E for Treatment of Pseudomonas aeruginosa Pneumonia in a Near-Term Rabbit Model. Journal of aerosol medicine and pulmonary drug delivery. 2019 Apr;32(2):110-118. eng. Epub 2018/10/20. DOI: <https://10.1089/jamp.2018.1468>
 14. van 't Veen A, Mouton JW, Gommers D, Kluytmans JA, Dekkers P, Lachmann B. Influence of pulmonary surfactant on in vitro bactericidal activities of amoxicillin, ceftazidime, and tobramycin. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1995 Feb;39(2):329-33. eng. Epub 1995/02/01. DOI: <https://10.1128/aac.39.2.329>
 15. Gotfried MH, Shaw JP, Benton BM, Krause KM, Goldberg MR, Kitt MM, Barriere SL. Intrapulmonary distribution of intravenous telavancin in healthy subjects and effect of pulmonary surfactant on in vitro activities of telavancin and other antibiotics. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2008 Jan;52(1):92-7. eng. Epub 2007/10/10. DOI: <https://10.1128/aac.00875-07>
 16. Morilla Guzmán AA, Díaz Casañas E, Ávila Albuerne Y, Barrese Pérez Y, Fernández Limia O, Uranga Piña R. Seguridad del tratamiento con Surfacen® en recién nacidos pretérminos con síndrome de dificultad respiratoria. Revista Cubana de Pediatría. 2019 2019-03-18;91(2:e700):1-14. Epub 2019-03-29. Disponible en: <http://www.revpediatria.sld.cu/index.php/ped/article/view/700>

17. Rodríguez Moya VS, Gallo Borrero CM, Santos Areas D, Prince Martínez IA, Díaz Casanas E, Lopez Herce Cid J. Exogenous surfactant and alveolar recruitment in the treatment of the acute respiratory distress syndrome. The clinical respiratory journal. 2017 Nov;11(6):1032-1039. eng. Epub 2016/02/18. DOI: <https://10.1111/crj.12462>
18. Barrese Pérez Y, Hidalgo Sánchez AO, Ávila Albuérne Y, Uranga Piña R, Díaz Casañas E, Fernández Limia O. Surfactante pulmonar exógeno en adultos con síndrome de dificultad respiratoria aguda. Neumología y cirugía de tórax.2015;74:172-178. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0028-37462015000300002&nrm=iso
19. Blanco O, Cruz A, Ospina OL, López Rodríguez E, Vázquez L, Pérez Gil J. Interfacial behavior and structural properties of a clinical lung surfactant from porcine source. Biochimica et biophysica acta. 2012 Nov;1818(11):2756-66. eng. Epub 2012/07/10. DOI: <https://10.1016/j.bbamem.2012.06.023>
20. Monté Cerero L, Martínez Casanueva R. Microorganismos aislados en pacientes ingresados. Hospital "Salvador Allende", La Habana. Febrero a junio de 2015. 2017. 2017-06-28;16(4):12. Epub 2017-09-14. Disponible en <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/1326>
21. Torres A, Motos A, Battaglini D, Li Bassi G. Inhaled amikacin for severe Gram-negative pulmonary infections in the intensive care unit: current status and future prospects. Critical care (London, England). 2018 Dec 17;22(1):343. eng. Epub 2018/12/19. DOI: <https://10.1186/s13054-018-1958-4>
22. Logre E, Enser M, Tanaka S, Dubert M, Claudinon A, Grall N, Mentec H, Montravers P, Pajot O. Amikacin pharmacokinetic/pharmacodynamic in intensive care unit: a prospective database. Annals of intensive care. 2020 2020/06/08;10(1):75. DOI: <https://10.1186/s13613-020-00685-5>
23. Oliva A, Carmona Y, de La C. López E, Álvarez R, Aung MS, Kobayashi N, Quiñones D. Characterization of Neonatal Infections by Gram-Negative Bacilli and Associated Risk Factors, Havana, Cuba. Infectious Disease Reports.

- 2021;13(1):219-229. Cited in: Pubmed; PMID DOI:
<https://10.3390/idr13010025>
24. White RL, Burgess DS, Manduru M, Bosso JA. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1996 Aug;40(8):1914-8. eng. Epub 1996/08/01. DOI: <https://10.1128/aac.40.8.1914>
25. Manzanares D, Díaz E, Alfonso W, Escobar A, Colomé H, Muñoz M, Noa M, Rabell S, Hidalgo O. Surfactante pulmonar natural porcino. República de Cuba, Patente A. 1995;A 61:35-42K.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
27. Johnson PA. Novel understandings of host cell mechanisms involved in chronic lung infection: Pseudomonas aeruginosa in the cystic fibrotic lung. Journal of infection and public health. 2019 Mar-Apr;12(2):242-246. eng. Epub 2018/11/22. DOI: <https://10.1016/j.jiph.2018.10.014>
28. Ho DK, Nichols BLB, Edgar KJ, Murgia X, Loretz B, Lehr CM. Challenges and strategies in drug delivery systems for treatment of pulmonary infections. European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik eV. 2019 Nov;144:110-124. eng. Epub 2019/09/08. DOI: <https://10.1016/j.ejpb.2019.09.002>
29. Schwameis R, Erdogan Yildirim Z, Manafi M, Zeitlinger MA, Strommer S, Sauermann R. Effect of pulmonary surfactant on antimicrobial activity in vitro. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2013 Oct;57(10):5151-4. eng. Epub 2013/07/24. DOI: <https://10.1128/aac.00778-13>
30. Birkun A. Exogenous pulmonary surfactant as a vehicle for antimicrobials: assessment of surfactant-antibacterial interactions in vitro. Scientifica. 2014;2014:930318. eng. Epub 2014/05/31. DOI: <https://10.1155/2014/930318>

31. Stichtenoth G, Linderholm B, Björkman MH, Walter G, Curstedt T, Herting E. Prophylactic intratracheal polymyxin B/surfactant prevents bacterial growth in neonatal Escherichia coli pneumonia of rabbits. *Pediatric research*. 2010 Apr;67(4):369-74. eng. Epub 2009/12/26. DOI: <https://10.1203/PDR.0b013e3181d026f6>
32. Birkun AA, Kubyshkin AV, Novikov NY, Krivorutchenko YL, Fedosov MI, Postnikova ON, Snitser AA. Joint Intratracheal Surfactant-Antibacterial Therapy in Experimental Pseudomonas-Induced Pneumonia. *Journal of aerosol medicine and pulmonary drug delivery*. 2015 Aug;28(4):299-307. eng. Epub 2014/12/18. DOI: <https://10.1089/jamp.2014.1161>
33. Clancy JP, Dupont L, Konstan MW, Billings J, Fustik S, Goss CH, Lymp J, Minic P, Quittner AL, Rubenstein RC, Young KR, Saiman L, Burns JL, Govan JR, Ramsey B, Gupta R. Phase II studies of nebulised Arikace in CF patients with Pseudomonas aeruginosa infection. *Thorax*. 2013 Sep;68(9):818-25. eng. Epub 2013/06/12. DOI: <https://10.1136/thoraxjnl-2012-202230>
34. Griffith DE, Eagle G, Thomson R. Amikacin Liposome Inhalation Suspension for Treatment-Refractory Lung Disease Caused by Mycobacterium avium Complex (CONVERT). A Prospective, Open-Label, Randomized Study. 2018 Dec 15;198(12):1559-1569. DOI: <https://10.1164/rccm.201807-13180C>
35. Haworth CS, Bilton D, Chalmers JD, Davis AM, Froehlich J, Gonda I, Thompson B, Wanner A, O'Donnell AE. Inhaled liposomal ciprofloxacin in patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis and chronic lung infection with Pseudomonas aeruginosa (ORBIT-3 and ORBIT-4): two phase 3, randomised controlled trials. *The Lancet Respiratory medicine*. 2019 Mar;7(3):213-226. eng. Epub 2019/01/20. DOI: [https://10.1016/s2213-2600\(18\)30427-2](https://10.1016/s2213-2600(18)30427-2)
36. Marier JF, Brazier JL, Lavigne J, Ducharme MP. Liposomal tobramycin against pulmonary infections of Pseudomonas aeruginosa: a pharmacokinetic and efficacy study following single and multiple intratracheal administrations in rats. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2003 Aug;52(2):247-52. eng. Epub 2003/07/03. DOI: <https://10.1093/jac/dkg317>

Agradecimientos

A la Dra Gilda Toraño, del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri (IPK), Cuba por la generosa donación de las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

Al Fondo Financiero de Ciencia e Innovación de Cuba (FONCI 9470).

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Contribución de autoría

Conceptualización: Andrés Morilla Guzmán, Odalys Blanco Hidalgo.

Curación de datos: Yuliannis Lugones Ladrón de Guevara, Rebeca Pérez Collado, Andrés Morilla Guzmán, Ivette Espinosa Castaño.

Administración del proyecto: Odalys Blanco Hidalgo.

Metodología: Ivette Espinosa Castaño.

Supervisión: Ivette Espinosa Castaño.

Análisis formal: Yuliannis Lugones Ladrón de Guevara, Odalys Blanco Hidalgo.

Investigación: Yuliannis Lugones Ladrón de Guevara, Rebeca Pérez Collado, Odalys Blanco Hidalgo.

Visualización: Yuliannis Lugones Ladrón de Guevara, Rebeca Pérez Collado, Andrés Morilla Guzmán.

Validación: Yuliannis Lugones Ladrón de Guevara, Odalys Blanco Hidalgo.

Redacción del borrador original: Yuliannis Lugones Ladrón de Guevara, Rebeca Pérez Collado.

Redacción, revisión y edición: Yuliannis Lugones Ladrón de Guevara, Rebeca Pérez Collado, Andrés Morilla Guzmán, Ivette Espinosa Castaño, Odalys Blanco Hidalgo.

Aprobación del manuscrito final: Yuliannis Lugones Ladrón de Guevara, Rebeca Pérez Collado, Andrés Morilla Guzmán, Ivette Espinosa Castaño, Odalys Blanco Hidalgo.