



## PERSISTENCIA DE NIVELES RESIDUALES DE PENICILINA Y DIHIDROESTREPTOMICINA EN LECHE TRAS LA ADMINISTRACION DE DOS FORMULACIONES INTRAMUSCULARES

Mestorino, N.; Lambertini, A.; Marchetti, M.L.; Huber, B.; Moncada Cárdenas, L.; Errecalde, J.

Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. INCAM, Cañuelas, Buenos Aires, Argentina. [noram@fcv.unlp.edu.ar](mailto:noram@fcv.unlp.edu.ar)

### RESUMEN:

Se trabajó con dos grupos de seis animales experimentales, los que recibieron dos formulaciones intramusculares a base de penicilina-estreptomomicina y penicilina-dihidroestreptomomicina (Estreptopendibén 5 millones -estreptomomicina, penicilina sódica y penicilina benzatínica y Estreptopendibén formulación experimental -penicilina procaínica y dihidroestreptomomicina). Se tomaron muestras lácteas en función del tiempo y se determinaron las concentraciones de los principios activos por el método biológico.

Se realizó el cálculo del tiempo de retirada aplicando el método armonizado de la Comunidad Europea TTSC. Para los seis animales tratados con Estreptopendiben 5 millones se estimó un withdrawal de 87.55 h, considerando que los animales fueron ordeñados cada 12 h, el withdrawal se correspondería a 7.3 ordeñes. Ese sería el tiempo necesario para que la concentración residual en la leche de la mayoría de los animales alcance una concentración segura (Límite Máximo de Residuos, 0.006 IU para penicilina y 200 ppb para estreptomomicina/dihidroestreptomomicina).

En cuanto al formulado administrado al lote 2, Estreptopendiben experimental, arrojó un tiempo de descarte menor, que fue de 61.41 horas correspondiendo a 5.11 ordeñes (6 ordeñes, 3 días). Seguramente la presencia de penicilina benzatínica en el formulado número 2, es la que definió su mayor persistencia.

### Introducción:

La utilización de productos antimicrobianos, relacionado con el progresivo desarrollo de la industria láctea ha ido en aumento, ya que, hasta el momento continúan siendo una herramienta irremplazable en la lucha contra la mastitis. En muchas oportunidades, sin embargo, el uso de antimicrobianos no da los resultados que se esperan de ellos. Malas prácticas de formulación, anacronismo de formulaciones, utilización de principios activos o excipientes de mala calidad, y otros problemas cuya discusión excede la intención de este trabajo, se complementan para que los tratamientos, muchas veces, sean ineficaces e impredecibles. El fallo terapéutico es solamente uno de los problemas que el productor tiene que enfrentar, la presencia de residuos por encima de los límites permitidos es otro problema, que no debe ser subestimado. La detección de residuos de antimicrobianos en la leche, por su incidencia en la salud pública por un lado y por razones tecnológicas

por el otro (las industrias penalizan la presencia de agentes inhibidores), se ha transformado en una herramienta corriente en el procesamiento de la leche. Es esencial para cualquier antimicrobiano que se pretenda utilizar en vacas lecheras, disponer de estudios de residuos y, por lo tanto, de período de retirada esencialmente confiables para el productor y la industria láctea. En función de lo antedicho, se ha decidido llevar a cabo estudios con la finalidad de establecer periodos de retirada para un producto actualmente en uso y otro en etapa de desarrollo, los cuales están basados en la asociación entre beta lactámicos y aminoglucósidos.

### Objetivo:

Determinar los periodos de retirada para la combinación penicilina-dihidroestreptomomicina y penicilina-estreptomomicina, luego de su administración en dos formulaciones: Estreptopendibén 5 millones y Estreptopendiben Multidosis (formulación en desarrollo) del laboratorio Biogénesis-Bagó, en bovinos productores de leche, en período de producción luego de la administración de ambas por vía intramuscular.

### Materiales y Métodos:

Se utilizaron doce bovinos en producción láctea, con niveles entre 15 y 20 litros diarios y con un peso entre 400 y 500 kg, los cuales fueron divididos en dos lotes de 6 animales cada uno. Se usaron dos preparados a base de penicilina/aminoglucósido: A: Estreptopendibén 5 millones compuesto por estreptomomicina sulfato al 27%, penicilina sódica 1.56 g (equivalentes a 2.5 millones de UI) y penicilina benzatínica 2.1 g (equivalentes a 2.5 millones de UI) y B: Estreptopendibén multidosis compuesto por dihidroestreptomomicina sulfato al 25% y penicilina procaínica al 20%.

Los animales experimentales fueron sometidos a un análisis clínico a efectos de confirmar la normalidad de su estado. Posteriormente se los alocó en dos lotes de seis animales cada uno de la siguiente manera: los animales fueron pesados y rankeados desde el más pesado al más liviano, aloándose en guarda griega luego de asignar el primer animal al azar.

Lote 1: recibió la formulación A a razón de 20000 UI/kg por la vía intramuscular y 8 mg/kg de estreptomomicina.

Lote 2: recibió la formulación B (experimental) a razón de 1 mL/25 kg de peso vivo por la vía intramuscular

(correspondiendo a 10 mg/kg de dihidroestreptomicina y 8000 UI/kg de penicilina procainica por kilogramo de peso vivo).

**Obtención de muestras:** Se obtuvieron muestras de los cuatro cuartos mamarios, previamente a la administración de los preparados y a los siguientes tiempos post-administración: 6, 12, 24, 36, 48, 72, 84, 96, 108, 120, 132 y 144 horas (coincidiendo con los ordeñes). Las muestras fueron mantenidas a -20°C hasta su análisis.

**Análisis de las muestras:** Las concentraciones de penicilina en leche se determinaron utilizando un método microbiológico modificado (1), siendo el microorganismo test *Micrococcus luteus* ATCC 9341. La técnica tuvo un límite de cuantificación de 0.0125 UI/mL. El coeficiente de correlación promedio obtenido para soluciones patrones conteniendo penicilina en leche en concentraciones entre 0.0125 y 0.2 UI/mL fue de 0.98562 con un CV de 1.86 a 8.43 % para las diferentes diluciones ensayadas. Dado que *M. luteus* es resistente a aminoglucósidos, se trata de un método que, en este caso, mide estrictamente concentraciones de penicilina.

Las concentraciones de estreptomicina y dihidroestreptomicina en leche, por su parte, también se determinaron utilizando un método microbiológico modificado (1), pero en este caso el microorganismo test fue *Bacillus subtilis* ATCC 6633. A los efectos de evitar la interferencia de la penicilina presente en las muestras problema (ya que en este caso *B. subtilis* es susceptible a ambos antimicrobianos), la misma fue inactivada por la acción de  $\beta$ -lactamasa (Bactopenasa Laboratorio Difco, Detroit, MI, USA). La técnica tuvo un límite de cuantificación de 0.25  $\mu$ g/mL. El coeficiente de correlación promedio obtenido para soluciones patrones conteniendo estreptomicina en leche en concentraciones entre 0.25 y 8  $\mu$ g/mL fue de 0.95837 con un CV de 1.22 a 5.73 % para las diferentes diluciones ensayadas.

El Análisis estadístico de los datos y el cálculo del tiempo de retirada se realizó siguiendo el método armonizado TTSC (Time to Safe Concentration). El TTSC fue elegido como método armonizado por la Comunidad Europea. Se utilizó el programa WTM 1.4 desarrollado por la Agencia Europea para la Evaluación de Productos Medicinales (2).

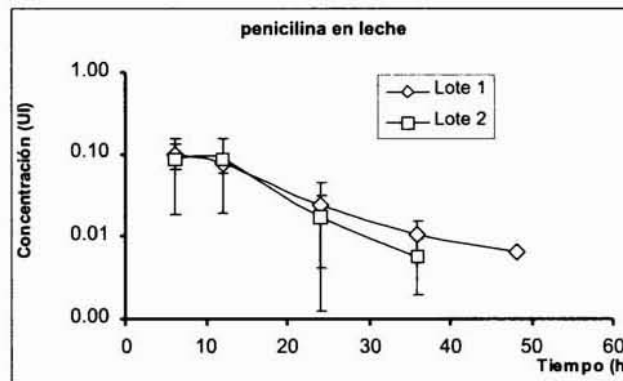
## Resultados:

El ensayo microbiológico fue lineal para todos los antimicrobianos ensayados. En las Figuras 1 y 2 se presentan los perfiles lácteos obtenidos para penicilina y para estreptomicina y dihidroestreptomicina en la leche de los animales tratados con ambas formulaciones.

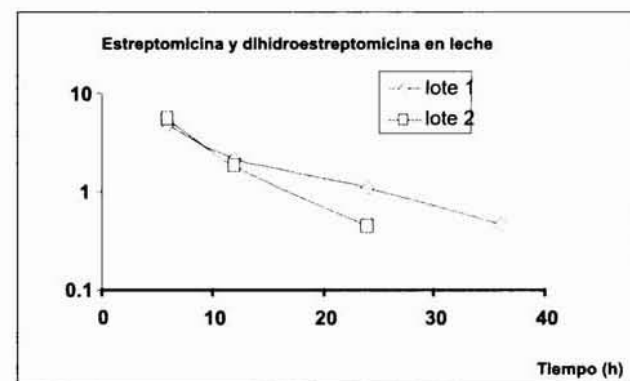
Al realizar el cálculo del tiempo de retirada aplicando el método armonizado de la Comunidad Europea TTSC, se estimó para los seis animales tratados con Estreptopendiben 5 millones un withdrawal de 87.55 h, considerando que los animales fueron ordeñados cada 12 h, el withdrawal se co-

respondería a 7.3 ordeñes (Tabla I). Ese sería el tiempo necesario para que la concentración residual en la leche de la mayoría de los animales alcance una concentración segura (Límite Máximo de Residuos, 0.006 IU para penicilina y 200 ppb para estreptomicina/dihidroestreptomicina, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines Evaluation Unit).

En cuanto al formulado administrado al lote 2, Estreptopendiben multidosis, arrojó un tiempo de descarte menor, que fue de 61.41 horas correspondiendo a 5.11 ordeñes (6 ordeñes, 3 días) (Tabla I).



**Figura 1:** Curvas semilogarítmicas comparativas de los perfiles lácteos de penicilina obtenidos en función del tiempo tras la administración de los dos formulados.



**Fig 2:** Curvas semilogarítmicas comparativas de los perfiles lácteos de estreptomicina y dihidroestreptomicina obtenidos en función del tiempo tras la administración de los dos formulados.

## Discusión

Estos hallazgos coinciden con Sumano (3,4), quien también menciona que los preparados con penicilina benzatínica tienen prolongada permanencia de niveles residuales en leche ocasionando mayores períodos de retiro en comparación con aquellos formulados que contienen penicilina procainica. Se trata de hallazgos previsible, dado que entre las penicilinas de depósito, la benzatínica tiene



una persistencia en el organismo mucho mayor que la procaínica, así como ésta última persiste mayor tiempo que la sódica o potásica. La insolubilidad que estas sales producen al asociarse con la molécula de penicilina, generan un depósito a nivel del sitio de administración que da lugar a una cinética de absorción con un perfil muy lento. Así, reiteradamente, hemos reportado semividas de eliminación mayores para la penicilina benzatínica, lo que se confirma en este informe.

**Summary:**

Two different formulations of penicillin-streptomycin and penicillin dihydrostreptomycin (Estreptendiben 5 millions -streptomycin, sodic penicillin and benzathine penicillin- and experimental formulation of Estreptendiben -procaine penicillin and dihydrostreptomycin) were administrated IM in two groups of six animals. Milk samples were obtained at different times and drug concentrations were determined by microbiological assay.

The milk withdrawal was calculated by using the TTSC harmonized method of the European Union. For the six animals treated with Estreptendiben 5 millions the WT

was 87,55 h and considering that the animals were milked each 12 hours, the WT would correspond to 7,3 milkings. This is the time required to reach a safe concentration in the milk of the majority of the treated animals (Maximum Residues Limit, 0.006 IU for the penicillin and 200 ppb for the streptomycin/dihydrostreptomycin).

Experimental estreptendiben showed an inferior WT, which was 61.41 h corresponding to 5.11 milkings (6 milkings, 3 days). It is probable that the presence of the benzathine penicillin in the formulation number 2 defined the longer persistence.

**Bibliografía**

- 1.- Grove D & Randall W. (1955). Assay Methods of Antibiotics. Medical Encyclopedia Inc. New York.
- 2.- EMEA/CVMP/473/98-Final. Note for Guidance for the determination of withdrawal periods for milk
- 3.- Sumano, L.H. et al. 1995. Bases farmacológicas de la vigilancia de residuos de fármacos en productos de origen animal. Vet.Méx. 26:175-182
- 4.- Sumano, L.H. et al. 1996. Bases farmacológicas del tratamiento de la mastitis. Vet.Méx. 27:63-82.

**Tabla I:** *Tiempos de retirada calculados para cada uno de los principios químicos presentes en los dos formulados ensayados.*

	Penicilina Estreptendiben 5 millones (lote 1)	Penicilina Estreptendiben multidosis (lote 2)	Estreptomicina Estreptendiben 5 millones (lote 1)	Dihidroestreptomicina Estreptendiben multidosis (lote 2)
Withdrawal (horas)	87.55	61.41	59.87	35.57