

# FARMACOCINÉTICA Y DEPLECIÓN DE RESIDUOS EN LECHE DE CLOXACILINA TRAS SU ADMINISTRACIÓN INTRAMAMARIA A VACAS LECHERAS

Nora Mestorino<sup>1</sup>, Daniel Buldain<sup>1</sup>, Florencia Aliverti<sup>1</sup>, Marisa Martínez<sup>2</sup>, Juan Rodríguez Pérsico<sup>2</sup>, Andrea Buchamer<sup>1</sup>, Laura Araujo<sup>3</sup>, Mariana Lucas<sup>3</sup> y Laura Marchetti<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Estudios Farmacológicos y Toxicológicos -LEFYT- Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina. \*Autor de correspondencia: [HYPERLINK "mailto:noram@fcv.unlp.edu.ar"](mailto:noram@fcv.unlp.edu.ar) noram@fcv.unlp.edu.ar; <sup>2</sup> Biogénesis Bagó S.A. Garín, Buenos Aires, Argentina; <sup>3</sup> Consultora el Trébol, Buenos Aires, Argentina.

## RESUMEN

Nuestro objetivo fue evaluar el comportamiento farmacocinético de cloxacilina (CLOX) sódica en leche tras su administración intramamaria (IMM) a vacas de alta y baja producción. Catorce vacas Holstein recibieron 5 aplicaciones IMM cada 12 horas de CLOX. Se obtuvieron muestras de leche compuesta a distintos tiempos entre cada administración y hasta 120 h post-última aplicación. Las concentraciones de CLOX fueron determinadas por Método Microbiológico. El análisis farmacocinético se realizó por método no compartimental. Las concentraciones de CLOX en leche fueron elevadas luego de cada aplicación IMM, para caer por debajo del límite de detección a las 60 h post-última administración. El periodo de retiro se estableció por el método "Time to Safe Concentration". El nivel productivo tuvo efecto significativo sobre la concentración máxima observada y el área bajo la curva concentración en función del tiempo. El periodo de retiro calculado fue de 61.89 h post-último tratamiento. La leche debe descartarse durante el tratamiento y los 5 ordeños posteriores a la finalización del mismo.

## SUMMARY

Our objective was to evaluate the pharmacokinetic behavior of cloxacillin (CLOX) sodium in milk after intramammary administration (IMM) to high and low production cows. Fourteen Holstein cows received 5 IMM applications every 12 hours of CLOX. Milk samples

were obtained at different times between each administration and up to 120 h post-last application. CLOX concentrations were determined by Microbiological Method. Pharmacokinetic analysis was performed by a non-compartmental method. CLOX concentrations in milk were elevated after each IMM application, to fall below the limit of detection at 60 h post-last administration. The withdrawal period was established by the "Time to Safe Concentration" method. The productive level had a significant effect on the maximum concentration observed and the area under the concentration curve as a function of time.

The calculated withdrawal period was 61.89 h post-last treatment, ie the milk should be discarded during the treatment and the 5 milks after the end of the treatment.

## INTRODUCCIÓN

La cloxacilina (CLOX) es comúnmente utilizada en el tratamiento y prevención de las mastitis por *S. aureus*. La eficacia de la terapia antimicrobiana en mastitis depende de factores como: tipo de antimicrobiano (ATM), dosis, vía de administración y duración del tratamiento, entre otros (Mestorino, 2012). Por otra parte, las empresas lácteas están abocadas a la disminución de los niveles de inhibidores en leche, implicando una mejora en los criterios de uso de ATMs y el manejo de información fehaciente en el tema periodos de retiro. De manera que los objetivos del presente estudio fueron: i) Evaluar el comportamiento farmacocinético de CLOX en leche tras la administración de 5 aplicaciones intramamarias

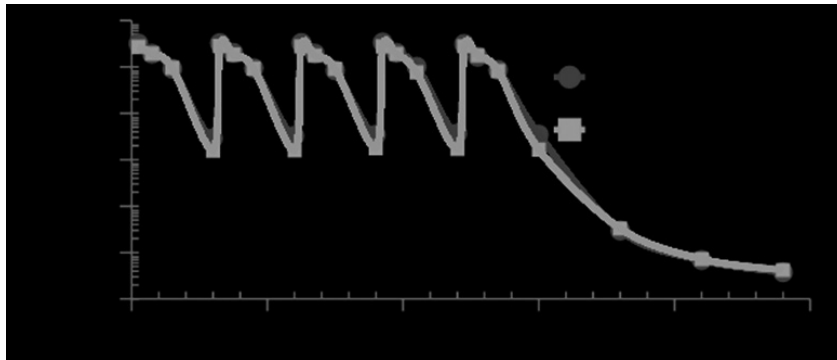
cada 12 horas de una formulación a base de CLOX-sódica (UBRESAN LAC 200, *Biogénesis Bagó*) a vacas de alta y baja producción en lactancia. ii) Determinar el tiempo de retiro en leche una vez finalizado el esquema terapéutico mencionado.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 14 vacas Holstein en producción ( $541.57 \pm 68.85$  kg), con un promedio de lactancias de  $1.79 \pm 1.12$ , bajo una rutina de 2 ordeñes diarios cada 12 horas. Se agruparon en 7 individuos de "baja producción" ( $15.94 \pm 0.92$  L/d) y 7 de "alta producción" ( $24.03 \pm 0.96$  L/d). La formulación intramamaria (IMM) fue aplicada en cada uno de los cuartos mamarios de cada animal, realizando 5 aplicaciones a razón de una jeringa de 5 g (conteniendo 200 mg de CLOX-sódica) por cuarto mamario (4 jeringas/animal/tiempo de tratamiento) cada 12 horas. Se obtuvieron muestras de leche compuesta según el siguiente esquema: muestra 0 h previa al 1° tratamiento; ordeño; aplicación del 1° pomo IMM en cada cuarto; obtención de muestra de leche a 1; 3; 6; 12 h post-1° tratamiento; ordeño. Este esquema se repitió hasta completar las 5 aplicaciones, para continuar con muestras de leche cada 12 h (coincidiendo con los ordeñes sucesivos), hasta las 168 h post-primer tratamiento o 120 h post-último tratamiento. La concentración de CLOX fue determinada por Método Microbiológico, técnica Cilindro/Placa, utilizando como cepa testigo *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 (*Sarcina lútea*) 70% de transmisión. El análisis farmacocinético (PK) de CLOX en leche a partir del último tratamiento, se realizó por método no compartimental (Phoenix® WinNonlin® 6.3), evaluando máxima concentración observada en leche ( $C_{max}$ ), tiempo en alcanzar la  $C_{max}$  ( $T_{max}$ ), semivida de eliminación ( $t_{1/2}$ ), área bajo la curva concentración en función del tiempo (ABC) y tiempo medio de residencia (TMR). Mediante ANOVA se evaluó si hubo "efecto significativo" ( $\alpha = 0.05$ ) del nivel de producción láctea sobre el comportamiento PK de CLOX tras su administración IMM. El periodo de retirada se estableció aplicando el método TTSC (Time to Safe Concentration) con el programa WTM 1.4 desarrollado por la Agencia Europea para la Evaluación de Productos Medicinales (EMA), que establece un máximo límite de residuos de CLOX en leche (LMR) de 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (30  $\text{ng}/\text{g}$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los niveles de CLOX en leche según el nivel productivo de los animales (alto o bajo) se presentan en la Figura 1, destacándose la similitud entre ambos perfiles. Las concentraciones de CLOX fueron muy elevadas, por ej.  $2971.16 \pm 575.30$ ;  $1880 \pm 354.42$ ;  $899.01 \pm 251.54$  y  $22.57 \pm 9.22$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  a la hora, 3, 6 y 12 h post-primera aplicación IMM, respectivamente. Comportamiento que se repitió tras cada administración para caer rápidamente, a las 60 h post-último tratamiento, a niveles por debajo del límite de sensibilidad del método (0.025  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). La cura de la mastitis por *S. aureus* aumenta significativamente cuando la duración del tratamiento se extiende de tres a cinco días, es esencial entonces, que la terapia provea concentraciones suficientes de ATM durante el tiempo necesario en el sitio de infección (Sandgren *et al.*, 2007; Mestorino, 2012). En la Tabla 1 se presentan los parámetros PKs (promedio  $\pm$  DS) en animales de alto y bajo nivel productivo, donde se observa una  $C_{max}$  muy elevada en todos los animales, indistintamente del nivel productivo, puesto que el pomo con CLOX fue aplicado en una ubre recién ordeñada. La primera muestra obtenida, fue 1h post-aplicación, donde el volumen de leche producido aún es muy escaso. Por otro lado, se trata de una formulación a base de CLOX-sódica, es decir de rápida liberación del principio químico. Esto lleva a tener una elevada concentración de ATM en la glándula casi de manera instantánea, para caer rápidamente según una cinética de primer orden. Esta caída de las concentraciones se debe por un lado al efecto de dilución ocasionado por el aumento del volumen de leche producida como también a la absorción del ATM desde la leche hacia el plasma. Las altas concentraciones determinaron un ABC también elevada, con una  $T_{1/2}$  de aproximadamente 6 h, tanto en animales de alta producción como de baja. Mediante ANOVA, se determinó que el nivel productivo tuvo efecto significativo sobre  $C_{max}$  y ABC. El periodo de retiro arrojado fue 61.89 h post-último tratamiento, lo que significa que la leche de los animales tratados debería ser descartada durante el tiempo que dura el tratamiento y los 5 ordeñes posteriores a la finalización del mismo.



**Figura 1.** Perfil comparativo de CLOX en leche tras la administración de 5 dosis de UBRESAN LAC 200 por cuarto mamario con intervalo de 12 h, a vacas Holstein sanas de alta producción (n = 7) y de baja producción (n = 7)

**Tabla 1.** Comparación de los parámetros PKs obtenidos en animales con producción inferior a los 20 L/d vs aquellos calculados en animales con producción mayor a los 20 L/d.

Parámet	unidad	Alta Producción		Baja Producción		P
		Promedio	DS	Promedio	DS	
T <sub>1/2λ</sub>	h	5.98	3.29	6.60	4.19	0.3088
C <sub>max</sub>	µg/mL	2774.56	277.81	3124.15	260.73	0.0159
AUC	µg.h/mL	77394.12	7882.47	86341.76	6597.95	0.0200
MRT	h	49.32	0.06	49.32	0.05	0.3165

## CONCLUSIONES

Este protocolo terapéutico nos permite lograr concentraciones sobre la CIM de la mayoría de los microorganismos sensibles a CLOX durante un 100% del intervalo de dosis durante el tratamiento. Estrategia deseada para los -lactámicos frente a microorganismos de difícil resolución. Post-tratamiento, las concentraciones caen rápidamente por debajo del LMR establecido. Tras la administración de UBRESAN LAC 200 (jeringas IMM de CLOX-sódica para aplicación durante la lactancia), la leche obtenida a partir del 6to ordeño (72h) es apta para consumo humano.

## BIBLIOGRAFÍA

- Mestorino N. 2012. *Pharmacokinetic-Pharmacodynamic considerations for bovine mastitis treatment*. **Book title:** A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine. Cap. 22 Pag.423-472.
- Sandgren Ch. H. y col. 2007. Therapeutic effects of systemic or intramammary antimicrobial treatment of bovine subclinical mastitis during lactation. *The Veterinary Journal*, 175:108-117