

Perfil farmacocinético de la gentamicina en cabras en lactación

Pharmacokinetic profile of gentamicin in lactating goats

ESMORIS, S¹; VERA, V₁; SUAREZ BELZONI, F₁; KREIL, V₁; AMBROS, L^{1,2}

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Farmacología. Buenos Aires, Argentina. ²CONICET-Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue describir el perfil farmacocinético y la llegada a leche de la gentamicina administrada por vía endovenosa, intramuscular y subcutánea en cabras en lactación. Seis cabras adultas sanas, en su segunda lactación y a partir de los 40 días post parto recibieron una dosis de 6,6 mg/kg de gentamicina por las tres vías estudiadas. Se siguió un diseño cruzado 2x2x2 y el período de lavado entre cada administración fue de 10 días. Se tomaron muestras de sangre y de leche a tiempos predeterminados y las concentraciones del antimicrobiano fueron determinadas por el método microbiológico. Se calcularon los parámetros farmacocinéticos en plasma mediante un análisis compartimental. El perfil farmacocinético fue muy semejante independientemente de la vía de administración, no encontrándose diferencias estadísticas en ninguno de los parámetros farmacocinéticos. No se pudieron detectar concentraciones de la droga en la leche. Nuestros resultados sugieren que el comportamiento farmacocinético de la gentamicina administrada a una dosis de 6,6 mg/kg a cabras en lactación es similar, independientemente de la vía de administración empleada, y podría indicarse con éxito para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias sensibles con CIM igual o menor a 3,8 y 2,6 µg/ml luego de su administración sc o im, respectivamente.

Palabras clave: (farmacocinética), (gentamicina), (cabras), (lactación)

Recibido: 10-12-19
Aceptado: 09-06-20
Correspondencia *e-mail*: Luis Ambros ambros@fvet.uba.ar

SUMMARY

The objective of the present study was to describe the pharmacokinetic profile and milk concentrations of gentamicin administered by intravenous, intramuscular and subcutaneous routes in lactating goats. Six healthy lactating goats in their second lactation (40 days post-partum) received a single intravenous, intramuscular and subcutaneous administration of gentamicin at a dosage of 6.6 mg/kg. A 2x2x2 cross over design was employed, the wash out period was 10 days. Blood and milk samples were collected at predetermined time and drug concentrations were determined by microbiological assay. Plasma pharmacokinetic parameters were calculated using compartmental analysis. The pharmacokinetic profile was similar regardless of the route of administration. No differences were detected in the pharmacokinetic parameters. Gentamicin concentrations were not detected in milk. Our results suggest that the pharmacokinetic behavior of gentamicin administered at dose of 6.6 mg/kg to lactating goats would be similar regardless of the route of administration and could be successfully used for the treatment of infections caused by sensitive microorganisms with MIC equal or less than 3.8 or 2.6 µg/mL after sc or im administration, respectively.

Key words: (pharmacokinetics), (gentamicin), (lactating), (goats)

INTRODUCCIÓN

En Argentina, al igual que en el resto del mundo, la producción caprina es de fundamental importancia como sustento económico para pequeños productores y, en general, es llevada a cabo en explotaciones extensivas en relación a áreas agroecológicas marginales². Sin embargo, en los últimos años se ha observado una evolución de la producción lechera en regiones más favorables como la pampeana. Las enfermedades infecciosas son una de las causas más importantes de pérdidas económicas en el ganado caprino. Muchas veces la escasez de estudios hace que, para su tratamiento, se instauren esquemas antimicrobianos extrapolados desde otros rumiantes como ser bovinos y ovinos, sin contemplar que entre las diferentes especies pueden existir diferencias en la farmacocinética de las drogas que invalidan esta práctica^{12,13}. A su vez, dentro de la misma especie distintos factores como la edad²⁶, la gestación o la lactación^{18,23,4} así como la vía de administración¹⁰ pueden modificar el perfil farmacocinético de una droga. Por lo tanto, con la finalidad de emplear en forma racional un antimicrobiano, es imprescindible realizar estudios farmacocinéticos en cada estado fisiológico en particular.

Por sus características farmacocinéticas y

farmacodinámicas, los antibióticos aminoglucósidos son considerados como una importante herramienta para el tratamiento de enfermedades infecciosas de frecuente aparición, principalmente causadas por bacterias Gram negativas aerobias. La gentamicina, como miembro de este grupo, se caracteriza por ser un antimicrobiano concentración dependiente, siendo la relación entre la concentración plasmática máxima y la concentración inhibitoria mínima del microorganismo (C_{max}/CIM) el parámetro que mejor caracteriza su efecto bactericida^{8,11}. La farmacocinética de la gentamicina ha sido descrita en diferentes especies, incluso en cabras^{17,15,13,3,1,5}. Sin embargo, no hay trabajos realizados en cabras en lactación. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el perfil farmacocinético de la gentamicina en plasma administrada por vía endovenosa, subcutánea e intramuscular a cabras en lactación y determinar el pasaje de la droga a la leche.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales: se utilizaron 6 (seis) cabras adultas en su segunda lactación, clínicamente sanas y con un adecuado estado sanitario y de la glándula mamaria. Ningún animal recibió tratamiento con drogas antimicrobianas al menos

un mes antes de comenzar con el experimento. Los animales fueron mantenidos sobre pasturas naturales con acceso al agua *ad libitum*. La producción diaria de leche fue de 520 ± 56 ml. El peso de los animales fue de 39 ± 4 kg. El ensayo farmacocinético se inició a los 40 días postparto. El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires.

Diseño experimental: previo al ordeño manual completo, cada animal recibió una dosis única de 6,6 mg/kg de gentamicina (Gentamicina Interbiol®, solución al 4%, Laboratorio Interbiol, Buenos Aires, Argentina) por vía endovenosa (ev) en la vena yugular derecha, intramuscular (im) entre los músculos semimembranoso y semitendinoso y subcutánea (sc) en la tabla del cuello. Se empleó un diseño cruzado 2/2/2 con un período de lavado de 10 días entre las distintas administraciones. Se tomaron muestras de sangre (2ml a cada tiempo) de la vena yugular (en el caso de la administración ev se tomaron de la vena opuesta a la de la administración) a las 0, 0,08; 0,16; 0,25; 0,50; 0,75; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 12 y 24 h post-administración, se centrifugaron a 3000 r.p.m. durante 10 minutos y el plasma obtenido fue conservado a -20 °C hasta su procesamiento. Las muestras de leche fueron obtenidas a las 0, 12 y 24 h post-administración. A cada tiempo los animales fueron ordeñados completamente (en forma manual), la leche obtenida de ambas glándulas mamarias fue homogeneizada y una alícuota de 2 ml fue conservada en idénticas condiciones a las del plasma.

Determinación de las concentraciones de gentamicina en leche y plasma: se empleó el método microbiológico de difusión en agar⁷. Se utilizó como microorganismo test *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) y agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Las muestras se sembraron por triplicado y los halos de inhibición fueron leídos luego de 18-20 horas de incubación a 36 °C. Las curvas patrón en ambas matrices biológicas se realizaron el mismo día de cada experiencia,

utilizándose plasma o leche de cabra libre de antibiótico, siendo conservadas en idénticas condiciones que las muestras problema. El rango de concentraciones para el cual mostró linealidad fue entre 0,39 y 39,4 µg/ml ($r=0.99$). El límite de cuantificación fue de 0,39 µg/ml.

Análisis farmacocinético: se realizó a partir de las curvas de disposición de cada animal utilizando el programa informático PCNONLIN 4.0 software (SCI Software, Lexington, KY, USA). Para las diferentes vías de administración se realizó un análisis compartimental, utilizando para la elección del modelo el que mejor ajustaba en cada caso los criterios de Akaike²⁷ y de Schwartz²⁴.

Para el caso de la vía ev, el modelo bicompartimental abierto fue el que logró el mejor ajuste, mientras que las vías extravasculares se ajustaron a un modelo monocompartimental. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon mediante las ecuaciones clásicas asociadas a estos modelos¹⁶.

Análisis estadístico: los parámetros farmacocinéticos se compararon mediante el test no paramétrico de Wilcoxon (comparación entre vía im y sc) o mediante un test de ANOVA (Friedman) (comparación entre vía ev, im y sc).

RESULTADOS

No se observaron efectos colaterales tras la administración de la droga en ninguno de los animales. La Figura 1 muestra las curvas de disposición media (concentración plasmática en función del tiempo) para las tres vías estudiadas.

En la Tabla 1 se resumen los valores obtenidos de los parámetros farmacocinéticos luego de la administración ev, mientras que la Tabla 2 muestra el valor de los parámetros para las vías sc e im. Tras el análisis estadístico de los parámetros no se encontraron diferencias significativas en ninguno de ellos entre ambos tratamientos.

Las concentraciones de gentamicina en leche estuvieron siempre por debajo del límite de cuantificación del método.

Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos (media \pm DE) de la gentamicina tras la administración de 6,6 mg/kg por vía endovenosa a cabras en lactación (n=6)

Parámetro farmacocinético	Vía endovenosa
C_1 ($\mu\text{g/ml}$)	$43,08 \pm 7,59$
C_2 ($\mu\text{g/ml}$)	$23,87 \pm 17,24$
K_d (h^{-1})	$1,49 \pm 1,16$
K_{el} (h^{-1})	$0,34 \pm 0,06$
$AUC_{(0-\infty)}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)	$105,44 \pm 25,48$
$T_{1/2(d)}$ (h)	$0,65 \pm 0,33$
$T_{1/2(el)}$ (h)	$2,07 \pm 0,33$
K_{10} (h^{-1})	$0,64 \pm 0,10$
K_{12} (h^{-1})	$0,38 \pm 0,50$
K_{21} (h^{-1})	$0,82 \pm 0,67$
V_c (l/kg)	$0,10 \pm 0,02$
$C_{p(0)}$ ($\mu\text{g/ml}$)	$66,45 \pm 17,43$
Cl (l/kg·h)	$0,07 \pm 0,02$
MRT (h)	$2,14 \pm 0,24$
$V_{(d(ss))}$ (l/kg)	$0,14 \pm 0,03$

C_1 , C_2 , ordenada al origen de la fase de distribución y eliminación, respectivamente; K_d , constante de la fase de distribución; K_{el} , constante de la fase de eliminación; $AUC_{(0-\infty)}$, área bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo desde el tiempo 0 hasta el infinito; $T_{1/2(d)}$, vida media de distribución; $T_{1/2(el)}$, vida media de eliminación; K_{10} , constante de eliminación desde el compartimiento central; K_{12} , constante de pasaje desde el compartimiento central al periférico; K_{21} , constante de pasaje desde el compartimiento periférico al central; V_c , volumen del compartimiento central; $C_{p(0)}$, concentración plasmática al tiempo 0.; Cl, clearance corporal; MRT, tiempo medio de residencia; $V_{(d(ss))}$, volumen de distribución en el estado estacionario.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que la vía de administración no influyó en el perfil farmacocinético de la gentamicina cuando fue administrada a cabras en lactación. Esto concuerda con un trabajo realizado previamente en nuestro laboratorio en el que la droga fue administrada por vía ev, im y sc a cabras preñadas⁵. Tras la administración ev, al igual que lo reportado en trabajos previos^{15,5}, la droga se distribuyó rápidamente, y el valor del volumen de distribución y del clearance evidenciaron la distribución de la droga

principalmente limitada al líquido extracelular y su excreción casi exclusivamente debida a procesos de filtración glomerular características de este grupo de antimicrobianos. A pesar de utilizar un análisis farmacocinético diferente, los valores de estos parámetros fueron similares a los obtenidos en cabras preñadas⁵ e igual a los obtenidos en yeguas preñadas y en lactación²³ y en ovejas preñadas²⁰. Si bien es de esperar que los diferentes cambios fisiológicos producidos durante la preñez puedan influir en la farmacocinética de algunas drogas, al igual que lo reportado en equinos, el estado fisiológico no

Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) de la gentamicina tras la administración de 6,6 mg/kg por vía subcutánea e intramuscular a cabras en lactación (n=6)

	Vía subcutánea	Vía intramuscular
K_a (h^{-1})	7,11 ± 4,27	3,15 ± 2,43
K_{el} (h^{-1})	0,39 ± 0,11	0,42 ± 0,11
$T_{1/2(a)}$ (h)	0,14 ± 0,10	0,51 ± 0,37
$T_{1/2(el)}$ (h)	1,90 ± 0,54	1,75 ± 0,44
T_{max} (h)	0,54 ± 0,27	0,86 ± 0,55
C_{max} ($\mu g/ml$)	38,10 ± 10,95	26,82 ± 7,70
$AUC_{(0-\infty)}$ ($\mu g \cdot h/ml$)	126,24 ± 55,92	90,74 ± 22,55
F (%)	123,47 ± 54,25	93,49 ± 40,23

K_a , constante de absorción; K_{el} , constante de eliminación; $T_{1/2(a)}$, vida media de absorción; $t_{1/2(el)}$, vida media de eliminación; T_{max} , tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima; C_{max} , concentración máxima; $AUC_{(0-\infty)}$, área bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo desde el tiempo 0 hasta el infinito; F, biodisponibilidad.

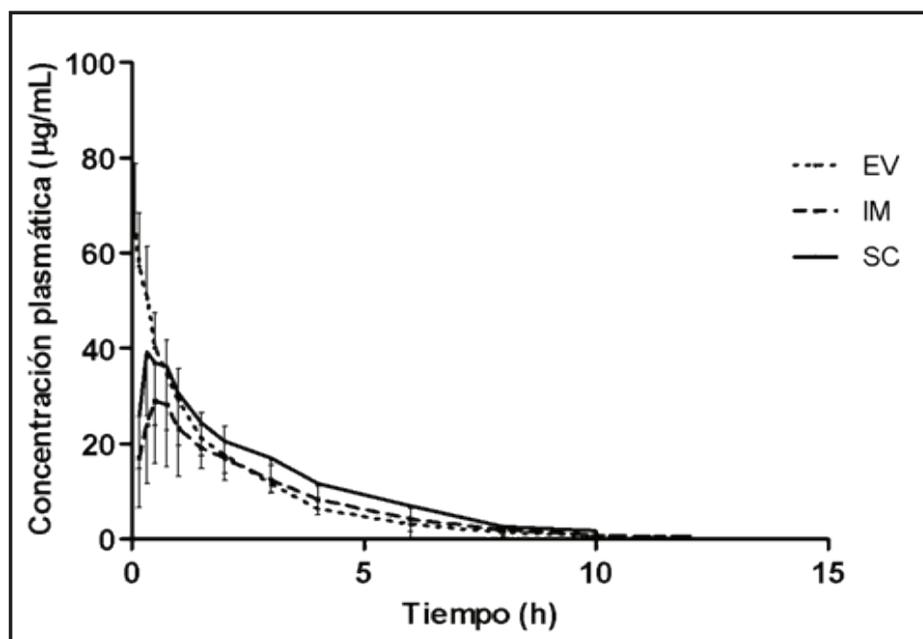


Figura 1. Curvas de disposición (media ± DE) de la gentamicina luego de la administración de 6,6 mg/kg por vía endovenosa (ev), intramuscular (im) y subcutánea (sc) a seis cabras adultas en lactación.

modificaría la farmacocinética de la gentamicina como sucede con otros antimicrobianos como la eritromicina⁴ o la penicilina⁶. A diferencia de estos reportes, Oukessou y Toutain²⁰, encontraron que, en ovejas, el aumento del volumen extracelular observado al final de la gestación produce un aumento en el volumen de distribución de la gentamicina.

Tras la administración extravascular, trabajos realizados en distintas especies animales tampoco encontraron diferencias significativas en los parámetros farmacocinéticos entre las vías sc e im, y, al igual que en nuestro estudio, se reportó una completa absorción con una biodisponibilidad cercana al 100%^{17,5}. Sin embargo, estudios realizados en cabras no preñadas y en pollos demostraron una absorción completa tras la vía sc, pero algo menor para la vía im con una biodisponibilidad cercana al 80%^{15,1}. Si tenemos en cuenta la media y los desvíos estándar tanto de la biodisponibilidad sc como im se puede observar que, en ambos casos, algunos animales arrojaron valores superiores al 100%, si bien es difícil poder determinar la causa de este valor, en general viene determinada por fenómeno de flip-flop en el que la fase de absorción enmascara a la fase de eliminación. Si bien este fenómeno es frecuente tras la administración de preparados de liberación lenta, la irritación en el sitio de administración, también puede modificar la absorción de una droga. Al igual que lo ocurrido en este trabajo, la biodisponibilidad tras la administración subcutánea fue mayor a 100% tanto en cabras preñadas⁵ como en pollos¹.

El valor de la vida media de la gentamicina en cabras se encuentra dentro del rango reportado previamente para cabras y otras especies. Por ejemplo, tras la administración im a cabras Garg *et al.*¹⁵ encontraron un valor mayor que en el presente trabajo. Por el contrario, cuando fue administrada en pollos se observó una mayor vida media tras la administración sc¹.

En general, el pasaje de antimicrobianos a la glándula mamaria se lleva a cabo a través de mecanismos pasivos. Es por ello que la liposolubilidad del fármaco es uno de los principales factores que influyen en el mismo. Si bien el

uso de aminoglucósidos no está indicado en animales en lactación, su espectro de actividad determina que se les dé un uso extra-rótulo en cabras. Teniendo en consideración que los aminoglucósidos son drogas altamente polares, es de esperar que, tal como ocurrió en este trabajo, no se detectaran concentraciones del antimicrobiano en la leche. En un trabajo realizado en vacas, si bien se encontraron concentraciones de la droga, éstas fueron muy bajas siendo cercanas al límite de cuantificación del método empleado en nuestro caso (446 ng/ml)²¹. Teniendo en cuenta que el límite máximo de residuos permitido por la Unión Europea en leche es de 100 µg/l¹⁴, el límite de cuantificación del método de detección empleado en este trabajo, se encuentra por encima de ese nivel, por lo tanto, los resultados obtenidos permiten determinar, que la droga no sería efectiva para el tratamiento de infecciones en la glándula mamaria, siendo necesario realizar otros estudios para el análisis de residuos con la finalidad de poder establecer un adecuado período de retirada. Tras la administración intramamaria en vacas, Tan *et al.*²⁵ sugieren que debe ser mayor a 5 días, mientras que Martins *et al.*¹⁹ encontraron residuos del antimicrobiano sólo por 48 horas después de finalizado el tratamiento.

En la práctica clínica, se indica la administración de estas drogas una vez por día, este régimen posológico maximiza su eficacia permitiendo disminuir la aparición de cepas resistentes⁹ y minimizando la aparición de efectos tóxicos²². Considerando la relación Cmax/CIM, la cual debe ser de 8-10 para garantizar la eficacia de estas drogas, las concentraciones encontradas en este trabajo permitirían concluir que, a la dosis empleada, la administración de gentamicina a cabras en lactación sería eficaz para el tratamiento de bacterias sensibles con CIM menor a 3,8 y 2,6 µg/ml luego de su administración sc o im, respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue subsidiado por el proyecto UBACYT 2018-2020, 20020170100574BA.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abu Basha, EA.; Idkaidek, NM.; Al Shunnaq, AF. Comparative pharmacokinetics of gentamicin after intravenous, intramuscular, subcutaneous and oral administration in broiler chickens. *Vet Res Com.* 2007; 31: 765-73.
2. Agraz, A.A. (1986). Cría y explotación de la cabra en América Latina. Editorial Hemisferio sur. Argentina. Primera edición. Capítulo 1.
3. Albarellos, G.; Montoya, L.; Ambros, L.; Kreil, V.; Hallu, R.; Rebuerto, M. Multiple once-daily dose pharmacokinetics and renal safety of gentamicin in dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2004; 27: 21-5.
4. Ambros, L.; Montoya, L.; Kreil, V.; et al. Pharmacokinetics of erythromycin in non-lactating and lactating goats after intravenous and intramuscular administration. *J Vet Pharmacol Ther.* 2007; 30: 80-5
5. Ambros, L.; Kreil, V.; Prados, A.P.; et al. Cinética comparativa de la gentamicina en cabras preñadas administrada por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea. *Rev Med Vet Bs As.* 2013; 94(2): 37-43.
6. Bengtsson, B.; Jacobsson, SO.; Luthman, J.; Franklin, A. Pharmacokinetics of penicillin-G in ewes and cows in late pregnancy and in early lactation. *J Vet Pharmacol Ther.* 1997; 20: 258-61.
7. Bennet, JV.; Brodie, JL.; Benner, EJ.; Kirby, WM. Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. *Applied Microbiol.* 1966; 14:170-7.
8. Blaser, J.; Stone, BB.; Groner, MC.; Zinner, SH. Comparative study with enoxacin and netilmicin in a pharmacodynamic model to determine importance of ratio of antibiotic peak concentration to MIC for bactericidal activity and emergence of resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1987; 31: 1054-60.
9. Daikos, GL.; Lolans, VT.; Jackson, GG. First-exposure adaptive resistance to aminoglycoside antibiotics in vivo with meaning for optimal clinical use. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991; 35: 117-23.
10. Delis, G.; Batzias, G.; Theodosiadou, E.; Kounenis, G.; KoutSoviti-Papadopoulou, M. Influence of the injection site on the pharmacokinetics of amoxicillin after intramuscular administration of a conventional and a long-acting formulation in sheep. *J Vet Pharmacol Ther.* 2009; 32: 269-75.
11. Drusano GL. Antimicrobial pharmacodynamics: critical interactions of "bug and drug". *Nat Rev Microbiol.* 2004; 2: 289-300.
12. Elsheik, HA.; Ali, BH.; Homeida, AM.; Hapke, H.J. Pharmacokinetics of antipyrine and sulphadimidine in camels, sheep and goats. *J Vet Pharmacol Ther.* 1991; 14: 269-75.
13. Elsheikh, HA.; Osman, IA.; Ali, BH. Comparative pharmacokinetics of ampicillin trihydrate, gentamicin sulphate and oxytetracycline hydrochloride in Nubian goats and Desert sheep. *J Vet Pharmacol Ther.* 1997; 20: 411-4.
14. EMEA (2016). Comitee for Medicinal Products for Veterinary Use. European Public MRL assessment report.
15. Garg, SK.; Verma, P.; Uppal, RP. Pharmacokinetics of gentamicin following single-dose parenteral administration to goats. *Br Vet J.* 1995; 151: 453-8.
16. Gibaldi, M.; Perrier, D. 1982. Farmacocinética. 2 edición, 47-98. Editorial Reverté S.A., Barcelona.
17. Gilman, JM.; Davis, LE.; Neff Davis, CA.; Koritz, GD. Plasma concentration of gentamicin after intramuscular or subcutaneous administration to horses. *J Vet Pharmacol Ther.* 1987; 10: 101-3.
18. Loebstein, R.; Lalkin, A.; Koren, G. Pharmacokinetic changes during pregnancy and their clinical relevance. *Clinical Pharmacokinetics.* 1997; 33: 328-43.
19. Martins, T.; Santos, AFS.; Miranda, MS.; et al. Persistence of gentamicin residues in cow milk after intramammary treatment. *Revue Méd Vét.* 2014; 165 (3-4): 62-7.
20. Oukessou, M.; Toutain, P. Influence of the stage of pregnancy on gentamicin disposition in the ewe. *Ann RechVét.* 1992; 23 (2): 145-50.
21. Pedersoli, WM.; Jackson, J.; Frobish, RA. Depletion of gentamicin in the milk of Holstein cows after single and repeated intramammary and parenteral treatments. *J Vet Pharmacol Ther.* 1995; 18:457-63.
22. Rybak, MJ.; Abate, BJ.; Kang, SL.; Ruffing, MJ.; Lerner, SA.; Drusano, GL. Prospective evaluation of the effect of an aminoglycoside dosing regimen on rates of observed nephrotoxicity and ototoxicity. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43: 1549-55.
23. Santschi, EM.; Papich, MG. Pharmacokinetics of gentamicin in mares in late pregnancy and early lactation. *J Vet Pharmacol Ther.* 2000; 23: 359,63.
24. Schwartz, G. Estimating the dimension of a model. *Annals of Statistics,* 1978; 6:461-64.
25. Tan, X.; Jiang, Y.; Huang, Y.; Hu, S. Persistence of gentamicin residues in milk after the intramammary treatment of lactating cows for mastitis. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2009; 10: 280-4.

26. Waxman, S.; San Andrés, M.D.; Gonzalez, F.; San Andrés, M.I.; De Lucas, J.J.; Rodríguez, C. Age-related changes in the pharmacokinetics of marbofloxacin after intravenous administration in goats. *J Vet Pharmacol Ther.* 2004; 27: 31-5
27. Yamhoka, K.; Nakagawa, T.; Uno, T. Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equation. *J Pharmacokinetic Biopharm.* 1978; 6: 165-75.