



Iván Saavedra Saavedra

Químico Farmacéutico

Asesorías Farmacéuticas

Rut: 4.600.527 -9

José Ortega y Gasset 7079, La Reina, Santiago.

Fono +56 9 98185305

Informe N° 22

14 de Junio 2021

ESTUDIO DE LA POTENCIA MICROBIOLÓGICA DE BENCILPENICILINA BENZATINA INYECTABLE DE OPKO CHILE S. A. SOBRE *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 , *in vitro*.

INTRODUCCIÓN.

La potencia microbiológica es un análisis “*in vitro*” que se realiza para demostrar la actividad bactericida de los antibióticos frente a cepas microbiológicas susceptibles.

La actividad y eficacia de los antibióticos en la forma farmacéutica inyectable, se puede evaluar con estudios clínicos en pacientes infectados; método de alto costo, que requiere instalaciones hospitalarias adecuadas, guías y protocolos aceptados por comisiones científicas, de ética y por las Agencias Reguladoras de Medicamentos (ARM). Otros métodos de estudios son el farmacodinámico que se basa en medir el efecto del antibiótico en pacientes como, por ejemplo, el tiempo que dura la fiebre; o el método farmacocinético que mide las concentraciones plasmáticas de la droga en el rango terapéutico. Estos dos métodos se realizan en grupos de pacientes, también tienen costos elevados y presentan dificultades éticas y administrativas. Además de los métodos antes descritos, tenemos los estudios “*in vitro*” de potencia microbiológica que son realizados en laboratorios bacteriológicos certificados, sus costos son menores, los requerimientos éticos y administrativos son mínimos y no injurian a pacientes ni a voluntarios sanos. Estos métodos además miden la concentración del medicamento en el inyectable o dosis.

Este informe da a conocer los resultados del estudio *in vitro* de la potencia microbiológica de una solución inyectable de 500 mg de liofilizado de Bencilpenicilina Benzatina de OPKO Chile S.A., que se compara con la potencia de una solución de igual concentración de Bencilpenicilina Estándar de referencia internacional de la droga, sobre las cepas de *Streptococcus agalactiae* ATCC



12386 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Este tipo de estudio se le denomina antibiograma y se basa en la comparación de los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento de los microorganismos, en placas de Agar Agar, expuestos a concentraciones conocidas del antibiótico.

La Bencilpenicilina Benzatina es una variedad química de la penicilina perteneciente al grupo de los betalactámicos¹. Su acción es bactericida bloqueando la reparación y síntesis de la pared bacteriana. Su espectro de acción principal son los cocos Grampositivos, en especial los estreptococos, los neumococos y los estafilococos no productores de penicilinas. La acción de la Bencilpenicilina cubre a otros microorganismos sensibles como son: *Neisseria gonorrhea*, *Treponema pallidum*, *Clostridium*, *Actinomyces bovis*, *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Listeria* y *Leptospira*.

La inyección de Bencilpenicilina Benzatina está indicada para el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio superior como amigdalitis, faringitis, laringitis; del tracto respiratorio inferior como la neumonía y bronconeumonía. Infecciones de piel y tejidos blandos: erisipela, escarlatina, endocarditis, meningitis bacteriana, sífilis, gonorrea, y en todos los procesos infecciosos causados por bacterias sensibles a la penicilina.

En Chile, la Agencia Nacional de Medicamentos, ANAMED, tiene registrado 2 productos inyectables con la droga Bencilpenicilina Benzatina.

La política farmacéutica del país establece el acceso de todos los pacientes a medicamentos de excelente calidad, seguros y eficaces sin mediar problemas de ubicación geográfica ni de costos. La Norma Técnica, NT N °131 del 15 de enero de 2012 del Instituto de Salud Pública (ISP), define los criterios destinados a establecer equivalencia terapéutica (EQT) entre productos farmacéuticos similares, complementándose con la Nota Técnica NT N ° 9 del 04 de junio de 2019, que da las directrices para la categorización de los productos farmacéuticos en solución acuosa. En ambas normas, la condición para la calidad del producto se basa en que su fabricación se haga bajo las Normas de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y, en las pruebas de control de calidad establecidas denominadas Buenas Prácticas de Laboratorio, BPL^{2, 3}

La calidad de los productos farmacéuticos de OPKO se asegura con el certificado internacional de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). Además, con las evidencias obtenidas de este estudio, se ofrece al cuerpo médico y farmacéutico una alternativa antibiótica confiable, de calidad, eficacia, y dosis comprobadas, a un menor precio.



OBJETIVOS

Evaluar la eficacia y confiabilidad de Bencilpenicilina Benzatina de OPKO Chile S.A mediante un análisis de la potencia microbiológica *in vitro*.

Comparar la actividad antimicrobiana del inyectable con la de una solución de Estándar primario de la droga pura, proveniente de la Farmacopea Norteamericana USP (USA).

Realizar la comparación estadística de los halos de inhibición del crecimiento de *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386 del inyectable (T) y la solución estándar (E).

Realizar la comparación estadística de los halos de inhibición del crecimiento de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 del inyectable (T) y la solución estándar (E).

MATERIALES

- Producto a probar o test (T):
 - Bencilpenicilina Benzatina, OPKO Chile S.A.
 - Liofilizado 1.200.000 U.I. para solución inyectable de Bencilpenicilina Benzatina
 - Serie: 200901
 - Fecha de vencimiento: 09/2023
- Estándar de referencia (E):
 - Bencilpenicilina Benzatina, Estándar primario
 - Lote: R04010
 - Potencia: 100%
 - Solvente: agua destilada

Medios de cultivo:

- Agar Granada
 - Nº de lote: 1008638850
 - Fecha de vencimiento: 07/07/2021
- Agar Sangre
 - Nº de lote: DJM15394
 - Fecha de vencimiento: 31/12/2021



- Agar Müller-Hinton con 5% de sangre de cordero

N ° de lote: 21051804

Fecha de vencimiento: 06/08/2021

Cepas:

Streptococcus agalactiae ATCC 12386

Streptococcus pyogenes ATCC 19615

MÉTODO

En primer lugar, se realizó el aislamiento de la cepa de *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386 en un medio de cultivo Agar Granada. Posteriormente se realizó el aislamiento de la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 en medio de cultivo Agar Sangre.

El antibiograma se hizo en 20 placas de Agar Mueller Hinton y en Agar Mueller Hinton con 5% de sangre de cordero, respectivamente, con el producto a estudiar, siguiendo las recomendaciones del Clinical Laboratory Standards Institute (ex National Committee for Clinical Laboratory Standards), según documento M100 (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing).⁴

Los sensibilizadores del estándar y del test fueron proporcionados por E. Marin SDA, S.A.; los cuales contienen las siguientes concentraciones de Bencilpenicilina Benzatina:

- Sensidiscos T (test): 10 UOF de Penicilina

Bencilpenicilina Benzatina OPKO Chile S.A.

- Sensidiscos E (estándar): 10 UOF de Penicilina. USP, USA.

Bencilpenicilina Estándar Internacional

Se realizó la combinación Test-Estándar (T-E) en 20 placas de cada cepa estudiada. Luego, las placas se incubaron a 37 ° C por 24 horas. Cumplido el tiempo, se midieron los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento microbiano que provocó cada sensibilizador antimicrobiano, acumulando 20 datos para el análisis matemático. Un halo susceptible para sensibilizadores de Bencilpenicilina Benzatina es de ≥ 24 mm.



ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para calcular los promedios y desviaciones estándar de los diámetros de los halos de inhibición resultantes, se utilizaron metodologías convencionales (estadística descriptiva).

Para realizar la comparación de los resultados obtenidos entre ambos grupos, se utilizó la Prueba **t de Student**, con un intervalo de confianza del 95%, donde un p significativo es menor a 0,05.

RESULTADOS.

El promedio de los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento de la cepa *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386 provocado por Bencilpenicilina Benzatina de OPKO Chile S.A fue de $34,40 \text{ mm} \pm 0,50$.

El promedio de los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento de la cepa *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386 provocado por Bencilpenicilina Benzatina del Estándar Internacional de la USP, USA fue de $34,20 \pm 0,52$

Al realizar la comparación de los halos de inhibición del crecimiento de *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386 entre Bencilpenicilina Benzatina de OPKO Chile S.A. (T) y la solución de Bencilpenicilina Benzatina Estándar Internacional (E) se obtuvo un $p = 0,2226$

El promedio de los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento de la cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 obtenido por Bencilpenicilina Benzatina de OPKO Chile S.A. fue de $37,90 \text{ mm} \pm 0,64$.

El promedio de los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento de la cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 obtenido por Bencilpenicilina Benzatina del estándar internacional de la USP, USA fue de $37,85 \text{ mm} \pm 0,67$

Al realizar la comparación de los halos de inhibición del crecimiento de la cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 entre Bencilpenicilina Benzatina de OPKO Chile S.A. (T) y la solución Estándar Internacional (E) se obtuvo un $p = 0,8106$

Tabla N°1 p obtenidas al realizar la prueba **t de Student**, con un intervalo de confianza del 95%

Cepa	Valor de p
	T vs E
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 12386	0,2226
	T vs E
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	0,8106



DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que para la cepa de *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386 y para la cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, no hay diferencias estadísticamente significativas entre los diámetros de los halos de inhibición de su crecimiento, cuando se exponen a Bencilpenicilina Benzatina contenida en el test o en la solución del Estándar Internacional. Ambos presentan halos ≥ 24 mm lo que indica sensibilidad *in vitro* y al realizar la Prueba t de Student obtienen una p mayor a 0,05 lo que significa que no hay diferencias significativas entre ambos.

CONCLUSIÓN

Al realizar el análisis de los resultados, podemos concluir que los sensidiscos de Bencilpenicilina Benzatina provenientes del liofilizado de 1.200.000 U.I. de la solución inyectable de OPKO Chile S.A. muestra sensibilidad *in vitro* para las cepas de *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

Además, se puede concluir que Bencilpenicilina Benzatina de OPKO Chile S.A no tiene diferencias estadísticamente significativas con el Estándar Internacional, siendo capaz de cumplir de manera eficaz su acción antimicrobiana, mostrando resultados satisfactorios respecto a su potencia microbiológica y comprobando la dosis del producto.

BIBLIOGRAFIA

1. Gooddman & Gilman; Las bases farmacológicas de la terapéutica, Novena Edición. Vol II. Editor Mc Graw Hill Interamericana.2006. Capítulo 45, Sección "Antimicrobianos, Penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos β -lactámicos, Brunton L y Parker K. páginas 1141, 1152, 1164, 1171.
2. Norma Técnica N ° 131 del 15 de enero de 2012. Define los criterios destinados a establecer la Equivalencia Terapéutica en productos farmacéuticos en Chile. Nota Técnica N ° 9 del 04 de junio de 2019. Directrices para la categorización de los productos farmacéuticos en soluciones acuosas. Ministerio de Salud.
3. Norma Técnica N ° 127. «Buenas Prácticas de Manufactura» BMP, ISPCh, Ministerio de Salud. 2005. Recomendada por los informes N ° 32 y N ° 33 de la OMS. BMP en la industria son una serie de estándares internacionales diseñados para garantizar la seguridad en la elaboración, manipulación, envasado, etiquetado y almacenamiento de productos para los consumidores. Ministerio de Salud de Chile.



4. Clinical Laboratory Standards Institute ex National Committee for Clinical Laboratory Standards), según documento M100. (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testin M100. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. USA.

RECONOCIMIENTOS

Se agradece y reconoce la asistencia técnica de la Señorita Andrea Catilao, Tecnóloga Médica, Laboratorio LMN Bicentenario Ltda., y del Dr. Eugenio Marín, Bioquímico, E. Marín SDA, S.A.

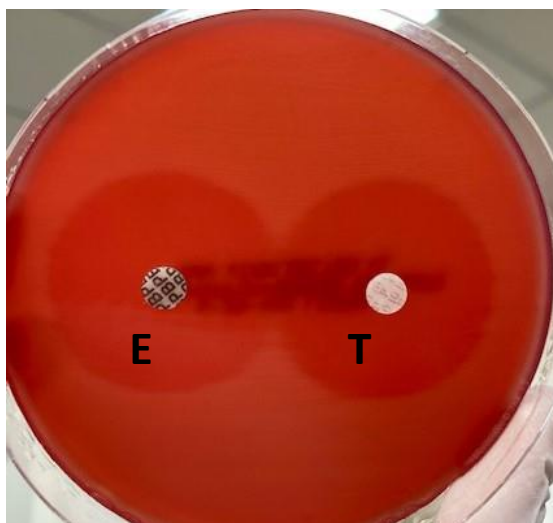
Santiago, 14 de junio de 2021.

Prof. Dr. QF. Iván Saavedra S.
Especialista en Farmacocinética
Ex - Director Centro IFT, Facultad de Medicina
Universidad de Chile



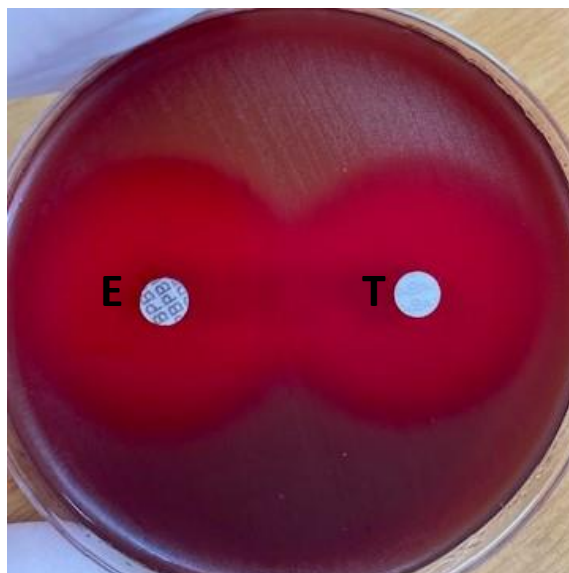
En las siguientes imágenes se puede apreciar los halos de inhibición de los sensibilizadores de Bencilpenicilina Benzatina para ambas cepas

Streptococcus agalactiae ATCC 12386:



Resultado representativo de los halos de inhibición obtenidos con sensibilizadores que contienen 10 UOF de Penicilina. Comparación de la potencia microbiológica de Bencilpenicilina Benzatina OPKO Chile S.A. (T) con Bencilpenicilina Benzatina de la USP, USA (E) en cultivo de *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386.

Streptococcus pyogenes ATCC 19615:



Resultado representativo de los halos de inhibición obtenidos con sensibilizadores que contienen 10 UOF de Penicilina. Comparación de la potencia microbiológica de Bencilpenicilina Benzatina OPKO Chile S.A. (T) con Bencilpenicilina Benzatina de la USP, USA (E) en cultivo de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.