

# RESUMEN

Las sulfamidas son utilizadas frecuentemente en medicina veterinaria, y sus residuos en leche no siempre son detectados a nivel de sus Límites Máximos de Residuos por medio de métodos de inhibición microbiológica. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de diferentes niveles de trimetoprim (TMP) en un bioensayo que utiliza *Geobacillus stearothermophilus* sobre la especificidad y los límites de detección de sulfamidas (SAs) en leche. Para ello, se prepararon 84 microplacas ELISA con Müeller Hinton, Negro Brillante (indicador) y *G. stearothermophilus* (bacteria-test). Dichas placas fueron fortificadas con diferentes niveles de TMP para evaluar la especificidad (0, 20, 40, 60 y 80  $\mu\text{g}$  TMP/L) y los límites de detección (0, 20, 40 y 60  $\mu\text{g}$  TMP/L) de seis sulfamidas.

No se observó efecto significativo del TMP (0, 20, 40 y 60  $\mu\text{g}$  TMP/L) sobre especificidad del bioensayo (95,8 %), mientras que mayor concentración de TMP (80  $\mu\text{g}$  TMP/L) produce una disminución en este parámetro (88,5 %). La aplicación del modelo de regresión logística señaló un efecto significativo para la concentración de SAs y la interacción concentración de SAs\*TMP, debido a esto puede considerarse que existe un efecto sinérgico entre ambos antimicrobianos.

En la medida que la concentración de TMP se incrementa desde 0 hasta 60 mg/L los límites de detección de Sulfatiazol (4360  $\mu\text{g}$ /L - 160  $\mu\text{g}$ /L), Sulfametoxazol (4130  $\mu\text{g}$ /L - 110  $\mu\text{g}$ /L), Sulfadimetoxina (7100 - 380  $\mu\text{g}$ /L), Sulfametazina (25400  $\mu\text{g}$ /L - 730  $\mu\text{g}$ /L), Sulfadiazina (19400  $\mu\text{g}$ /L - 580  $\mu\text{g}$ /L) y Sulfamerazina (30300  $\mu\text{g}$ /L - 1170  $\mu\text{g}$ /L), disminuyen notablemente.

*Palabras clave:* sulfonamidas, trimetoprim, leche, sinergismo, método de inhibición microbiológica.

## SUMMARY

**Study of synergism between sulphamides in milk and trimethoprim in a bioassay that using *Geobacillus stearothermophilus*.**

The sulphamides are commonly used in veterinary medicine, and yet the residues they leave are not always detected by microbiological inhibitor at their Maximum Residue Limit levels. The main

goal this paper was evaluated the effect of the incorporation of different trimetoprim (TMP) concentrations in a bioassay using *Geobacillus stearothermophilus* on the specificity and detection limits of sulphamides (SAs) in milk. Eighty-four microplates ELISA with Müller Hinton, Brilliant Black (indicator) and *G. stearothermophilus* (bacteria-test) were prepared. These plates were fortified with TMP different levels to evaluate the specificity (0, 20, 40, 60 and 80 µg TMP/L) and the detection limit (0, 20, 40 and 60 µg TMP/L) of six sulphamides.

No significant effect of the TMP (0, 20, 40 and 60 µg TMP/L) on bioassay specificity (95.8%) was observed, whereas greater concentration of TMP (80 µg TMP/L) cause a decrease in this parameter (88.5%). The application of a logistic regression model points to a significant effect to SAs concentration and SAs\*TMP interaction, and thus, it can be considered that there is a synergic effect between both antimicrobials.

When the TMP concentration is increased from 0 to 60 µg/L, the detection limits of Sulfathiazole (4360 µg/L - 160 µg/L), Sulfamethoxazole (4130 µg/L - 110 µg/L), Sulfadimethoxine (7100 µg/L - 380 µg/L), Sulfamethazine (25400 µg/L - 730 µg/L), Sulfadiazine (19400 µg/L - 580 µg/L) y Sulfamerazine (30300 µg/L - 1170 µg/L) are observed to decrease notably.

*Key words:* sulphonamides, trimetoprim, milk, synergism, microbiological inhibitor test.