



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

FARMACOCINETICA SERICA DE CUATRO
PRESENTACIONES COMERCIALES DE
OXITETRACICLINA EN VACAS SECAS

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
Para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista
por

MIRIAM HAYDEE SALAZAR MIRALRIO



Asesores: Ph.D.MVZ: Héctor Sumano López
Bíol. Ma. Isabel Gracia Mora

México. D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	2
III. HIPOTESIS.....	7
IV. OBJETIVO	7
V. MATERIAL Y METODOS.....	8
- Selección y pesaje de los animales.....	8
- Dosificación	9
--Toma y preparación de muestras.....	10
- Determinación de oxitetraciclinas por espectofotometría Ultravioleta-Visible.....	10
VI. RESULTADOS.....	14
VII. DISCUSION	16
VIII. LITERATURA CITADA.....	21
IX. CUADROS	24
X. FIGURAS	31

I. RESUMEN

Salazar Miralrio Miriam Haydeé. FARMACOCINÉTICA SÉRICA DE CUATRO PRESENTACIONES COMERCIALES DE OXITETRACICLINAS EN VACAS SECAS.(Bajo la asesoría de PhD.Msc.MVZ.Héctor Sumano López y Biól. Isabel Gracia Mora).

Existen numerosas presentaciones de oxitetraciclina en el mercado veterinario. Con las 4 presentaciones comerciales de larga acción de oxitetraciclina más utilizadas se realizó un estudio de bioequivalencias. Para ello se trabajó con 4 grupos de cinco vacas secas cada uno con un peso promedio de 600 kilogramos a las que se les administró intramuscularmente una dosis de 20 mg/kg de clorhidrato de oxitetraciclina para los cuatro grupos. Se tomaron muestras de sangre para la obtención de suero a diferentes tiempos durante 120 horas. La determinación de oxitetraciclina se realizó por espectrofotometría UV-Vis y precipitación de proteínas. El análisis estadístico de los resultados obtenidos de las concentraciones detectadas para cada producto demostró, que existen diferencias en la bioequivalencia de estas presentaciones aún utilizando la misma dosis. Los productos no tuvieron la misma permanencia en el suero y presentaron diferente concentración sérica máxima, concentración promedio y concentración a las 120 horas. Los datos obtenidos con este método colocan a dos de estos productos como oxitetraciclinas de larga acción (120 horas) aunque con una concentración promedio mayor para una de ellas. Los otros dos preparados pudieran ser utilizados como presentaciones con una duración intermedia de 72 horas aproximadamente. Se discute la necesidad de que se realicen análisis de bioequivalencia similares para otras presentaciones y otros antibióticos.

II. INTRODUCCION

En el ejercicio profesional de un Médico Veterinario Zootecnista existen diversos puntos de conflicto en la toma de decisiones, sobre todo en lo que respecta a la terapéutica clínica, tal es el caso de la selección adecuada de fármacos en la quimioterapia para el control y tratamiento de las diferentes enfermedades de los animales. Esto sucede en cualquier área de especialización del profesional, en la clínica de pequeñas y grandes especies.

Dentro del área de la producción animal, la clínica bovina ocupa un lugar importante desde el punto de vista económico, por lo que es determinante la correcta elección de la quimioterapia a utilizar en cualquiera de los problemas clínicos que se presenten en una explotación . En particular si se considera que puede involucrar cualquier tipo de agente etiológico (parasitario, viral, bacteriano, etc.). Dentro de estas diferentes etiologías destacan las patologías bacterianas por su frecuencia; para su tratamiento, se cuenta con el uso de antimicrobianos de muy diversa eficacia, espectro y potencia (4,5). Es posible pensar que este es uno de los mercados más importantes para los laboratorios farmacéuticos en la línea veterinaria. Un ejemplo claro de este mercado se percibe por el número de presentaciones comerciales de cada uno de los antimicrobianos para cada patología específica. Por lo tanto, la selección adecuada de un antimicrobiano como terapéutico para cada caso específico debe contemplar diversos factores, tales como: la sensibilidad y/o resistencia bacteriana al antibiótico, conocimiento de la acción, difusión y duración del antibiótico en los tejidos afectados, edad, salud y propósito del animal, características farmacéuticas de las presentaciones comerciales disponibles, la toxicidad y por supuesto la relación costo-beneficio en el tratamiento (8,18). Tampoco se debe olvidar que la dosis debe ser la adecuada para poder tener una respuesta favorable y en este aspecto se incluye la vía de

administración, intervalo de dosificación, recomendaciones en su uso, así como la revisión de la farmacología básica del medicamento, su toxicidad y sus contraindicaciones (11). A todo esto deberán añadirse las consideraciones de bioequivalencia de productos comerciales farmacéuticos disponibles en el mercado nacional.

En la terapéutica bovina se hacen uso de diferentes antimicrobianos que se agrupan en: penicilinas, cefalosporinas, aminoglicósidos, tetraciclinas, cloranfenicol y derivados, macrólidos, lincomicina espectinomicina, tiamulina, nitrofuranos, polimixinas, sulfonamidas, etc (18). Dentro de estos grupos de antibióticos, las tetraciclinas ocupan un lugar importante por su demanda en el mercado debido a la versatilidad de su uso en diversas patologías. Las tetraciclinas fueron el primer grupo descubierto de antibióticos bacteriostáticos de amplio espectro, que tiene actividad contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas; microorganismos del género rickettsias, treponemas, micoplasmas y clamidias, etc (13). No obstante, la frecuencia de su uso ha dado lugar a un incremento de patógenos resistentes en el organismo del animal como son coliformes, estreptococos, neumococos y estafilococos, esta resistencia es provocada por la disminución del transporte activo al interior de las bacterias (1,11).

Las tetraciclinas fueron aisladas inicialmente del *Streptomyces aureofaciens* en 1944 y con la manipulación química de la molécula básica se han logrado obtener la clortetraciclina, la oxitetraciclina y las tetraciclinas de larga duración como son la demeclociclina, la doxiciclina y la minociclina, aunque estas últimas no están disponibles aún para su uso en bovinos (3).

El mecanismo de acción de las tetraciclinas se basa en su capacidad de inhibir la síntesis protéica en las bacterias susceptibles, impidiendo la interacción del grupo ARN aminoácido con el complejo ARN ribosomal en la unión ribosomal 30s. Dado que las

tetraciclinas deben entrar a la bacteria para inhibir la síntesis protéica, se cree que los mecanismos de resistencia bacteriana se basan en abatir los sistemas de transporte activo que llevan a las tetraciclinas al interior de la bacteria (19). Las tetraciclinas tienen diferentes grados de liposolubilidad y evidentemente, su cinética se relaciona con la liposolubilidad de manera directa; es decir a más liposolubilidad, mejor distribución, absorción y biodisponibilidad (13).

Aunque todas las tetraciclinas se pueden absorber a partir del tracto gastrointestinal en monogástricos (5,19), en rumiantes esta vía no es adecuada (10,18). Por vía intramuscular sólo se puede aplicar la oxitetraciclina, la administración de las otras tetraciclinas es extremadamente irritante causando abscesos estériles y daño tisular severo. En el caso de la oxitetraciclina su aplicación debe ser profunda y si es posible en varios sitios de inyección ya que pueden producirse abscesos estériles e incluso necrosis. Las tetraciclinas difunden a todo el cuerpo, pero principalmente a bazo, hígado y pulmones (3,4,5).

Una de las tetraciclinas más usadas y de hecho uno de los antibióticos más utilizados en la Medicina veterinaria es la oxitetraciclina que fue descubierta en 1953 a partir de los cultivos de *Streptomyces rhimosus* (1,13). Por su amplio espectro y su eficacia aún contra mycoplasmas (14), se le considera una de las mejores opciones para el tratamiento de infecciones de diversos asientos en el organismo de los rumiantes (4,8,11). Además de que se ha informado en diversos artículos de una duración de hasta 216 horas con distintas preparaciones de oxitetraciclina, lo que garantiza niveles plasmáticos en concentraciones que fluctúan entre los 0.2 hasta 20 µg/ml (9).

En sus diversas presentaciones la oxitetraciclina representa uno de los mercados más atractivos para la industria farmacéutica y con base en cálculos de mercadotecnia se le considera uno de los productos más vendidos en la línea veterinaria de antibióticos. Por

esta razón existen disponibles para el clínico especialista en bovinos 31 presentaciones comerciales inyectables* de las que se conoce poco acerca de su farmacocinética individual y aún menos de su farmacocinética comparativa.

La primera oxitetraciclina disponible data de mediados de la década de los 50's y fue introducida al mercado por los laboratorios Pfizer de México con el nombre de Emicina®. Posteriormente este mismo laboratorio introdujo la presentación que ahora denomina Emicina L.A.®, compuesto con supuesta acción prolongada hasta de cinco días (3, 20). Esta formulación contiene clorhidrato de oxitetraciclina 200 mg; pirrolidona 400 mg; povidona 50 mg y vehículo cbp un mililitro. En la actualidad Pfizer ha puesto a disposición del veterinario un producto denominado Terramicina Plus® con 100 mg de clorhidrato de oxitetraciclina, polivinilpirrolidona 175 mg y un vehículo no especificado por cada mililitro; esto es una presentación con la mitad de la concentración que el producto anteriormente descrito. Aunque no se maneja como un fármaco de larga acción y no se especifica la duración de su efecto terapéutico, se aconseja eliminar la leche para consumo humano durante 60 horas postinyección.

En cuanto a otras presentaciones novedosas de clorhidrato de oxitetraciclina destaca la denominada Engemycin 10% L.A.®** con una fórmula aparentemente idéntica a la de Terramicina Plus, pero comercializada como una molécula "blindada". No se especifica como se logró dicho "blindaje", pero es posible que la molécula se encuentre protegida con una ciclodextrina para reducir la irritación tisular y aumentar la biodisponibilidad como se menciona en la información técnica del laboratorio, además sugieren dos niveles de dosificación según la acción que el caso requiera, para obtener una acción de 24 horas se recomienda una dosis de 5-8 mg/kg y para una acción prolongada (sin especificarse el tiempo), se debe aplicar una dosis de 10-20 mg/kg. Otra presentación

* Prontuario de Especialidades Veterinarias. PLM, 1992.

** Intervet internacional, S.A. de C.V. Boletín Técnico, 1991.

de uso común, es la denominada Vetralent 20% L.A.® del cual se desconoce su vehículo y contiene el doble de la concentración de clorhidrato de oxitetraciclina con respecto a Terramicina Plus® y a Engemycin 10 % L.A.® (200 mg/ml) .

Dada la importancia de este antibiótico en la medicina veterinaria y en virtud de las diferentes presentaciones del mercado, se consideró relevante llevar a cabo un ensayo de bioequivalencias destinado a definir los perfiles plasmáticos de las cuatro tetraciclinas más comercializadas en México.

*Laboratorios Virbac de México. S.A. de C.V.

III. HIPOTESIS

Existen diferencias en la farmacocinética sérica básica de cuatro distintas presentaciones comerciales de oxitetraciclinas en bovinos.

IV. OBJETIVO

Determinar si existen diferencias en la farmacocinética sérica básica comparando cuatro distintas presentaciones comerciales de oxitetraciclinas en bovinos.

V. MATERIAL Y METODOS

Selección y pesaje de los animales.

El experimento se realizó en una explotación de tipo intensivo con producción de leche y carne, localizada en el municipio de Ixtapaluca, Edo. de México.

Se utilizaron 20 vacas secas entre 2 y 3 años de edad que se seleccionaron tomando como criterio la edad, buen estado físico general, así como no haber tenido antecedentes de aborto o retención placentaria, ni ser hembras primerizas. Las vacas seleccionadas tenían una semana de haber sido retiradas del ordeño y se mantenían en corrales especiales para vacas secas. Estos animales se marcaron y se separaron en un corral determinado para facilitar el manejo.

El peso de los animales se calculó con base en una aproximación promedio del peso del hato, obteniendo un resultado de 600 kilogramos de peso promedio por animal.

Dosificación

Se administró por vía intramuscular profunda una sola dosis del antibiótico equivalente a 20 miligramos por kilogramo de peso del animal en cuatro sitios de inyección para las cuatro presentaciones comerciales de oxitetraciclina, formando cuatro grupos de cinco animales cada uno distribuidos al azar y dosificando de la siguiente manera:

<u>GRUPO</u>	<u>PRODUCTO</u> <u>COMERCIAL</u>	<u>CONCENTRACIÓN</u>	<u>DOSIS POR 100</u> <u>KG DE PESO</u>
A	<i>Emicina L.A</i>	200 mg/ml	10 ml
B	<i>Terramicina Plus</i>	100 mg/ml	20 ml
C	<i>Veterralent 20% L.A</i>	200 mg/ml	10 ml
D	<i>Engemycin 10% L.A</i>	100 mg/ml	20 ml

La administración de los productos se realizó en el menor intervalo de tiempo posible entre el primer y el último sitio de inyección, no siendo mayor a los 30 segundos y tomando este momento como la hora 0.

Toma y preparación de muestras.

Se tomaron muestras de sangre con tubos tipo vacutainer sin anticoagulante para la obtención de suero mediante coagulación a los siguientes tiempos post-inyección: 30 minutos, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108 y 120 horas que equivalen a cinco días en total anotando el tiempo exacto de la toma de muestra.

Los tubos se centrifugaron a 4,000 rpm durante 15 minutos para separar el suero. Se colocó el suero en frascos ámbar identificados con el grupo, número de vaca y número de muestra y se conservaron en congelación a -10°C dentro de un cuarto frío hasta que las muestras fueron procesadas.

Determinación del clorhidrato de oxitetraciclina por el método de espectrofotometría de Ultravioleta-Visible (UV-Vis) en suero con precipitación de proteínas.

En el suero se encuentran una gran cantidad de proteínas que dificultan la lectura por lo que es necesario precipitarlas, eligiendo para esto el procedimiento de separación de proteínas con la utilización de disolventes (Etanol). La adición de disolventes orgánicos neutros miscibles con el agua, disminuye la solubilidad de la mayor parte de las proteínas globulares, de tal manera que las proteínas precipitan en disolución. Puesto que el etanol posee una constante dieléctrica menor que la del agua, su adición a una disolución acuosa de proteína incrementa la fuerza de atracción entre las cargas opuestas, disminuyendo de este modo el grado de ionización de los grupos R de la proteína. Como resultado, las moléculas de la proteína tienden a agruparse y precipitan. (16)

Las oxitetraciclinas presentan una absorción intensa en el espectrofotómetro electrónico en la región Ultravioleta-Visible entre 270 y 380 nm. (11) Aprovechando

este comportamiento es posible cuantificar oxitetraciclinas en disolución, como sucede en el suero sanguíneo, para lo cual es necesario elaborar una curva patrón agregando al suero proveniente de animales que no estén sometidos a ningún tratamiento, concentraciones conocidas de clorhidrato de oxitetraciclinas. Se elaboró una curva patrón para cada una de las presentaciones comerciales utilizadas en este ensayo, haciendo disoluciones de estas en agua bidestilada hasta obtener una solución con una concentración stock de 100 $\mu\text{g/ml}$ para cada producto. De esta solución se agregaron cantidades con concentraciones conocidas de clorhidrato de oxitetraciclina que varían desde 0.33 hasta 21 $\mu\text{g/ml}$ al suero testigo o libre de tratamiento considerando el volumen total de la disolución stock:suero:etanol puesto que se añade una proporción de etanol:suero de 2:1 para precipitar la proteína, es decir, por cada mililitro de suero se añaden 2 mililitros de etanol absoluto (Concentración final = Concentración stock / volumen total). El porcentaje de oxitetraciclina que se une a proteínas plasmáticas está reportado en la literatura como un 18% aproximadamente, siendo esta fracción no esperada a detectar por este método (17,23).

Después de esto, se centrifugaron las muestras a 14,000 rpm durante 30 minutos en una centrifuga Eppendorf para obtener una fracción transparente, donde se supone prevalecerán la parte acuosa del suero con la oxitetraciclina añadida o en su caso inyectada, además parte del etanol que se agregó a la muestra. Utilizando un espectrofotómetro de UV-Vis, se obtiene la lectura del espectro respecto a la cantidad de luz absorbida entre los 190 y 820 nm de longitud de onda del rayo de luz ultravioleta, tomando como referencia base suero procesado de forma idéntica a las muestras pero sin oxitetraciclina.

En los espectros obtenidos de las diferentes disoluciones de cada presentación comercial se aprecia un pico máximo a 280 y 354 nm de longitud de onda que denota la presencia de cierta cantidad de determinado elemento (véase Figura 1).

La lectura para la concentración de oxitetraciclina se realizó tomando 354 nm de longitud de onda como base , debido a que por debajo de 280 nm el espectro puede estar tomando en cuenta la cantidad de luz absorbida no solo por la oxitetraciclina, sino también por el suero, el etanol, etc.

En la Figura 2 podemos observar también que los espectros obtenidos de una misma concentración para los cuatro productos comerciales difieren en la absorbancia del pico máximo aún estando en disolución solamente en agua destilada, por lo que no pueden existir otro elementos más que el agua que interfieran en la lectura. La presencia en cada presentación de diferentes vehículos desconocidos u otros compuestos para obtener larga acción, estabilidad, etc. puede estar afectando la cantidad de luz absorbida de cada compuesto aumentándola, disminuyéndola o también desplazando a más o a menos longitud de onda el pico máximo de la absorbancia, aunque este cambio no es mayor a los 6 nm de longitud de onda. Es debido a estos factores que la curva patrón no se realizó en base a un estándar oficial.

Con los datos de absorbancia obtenida de las diferentes concentraciones de los productos comerciales se construye una gráfica de absorbancia contra concentración y se realiza una regresión lineal sobre estos datos. La pendiente de la recta obtenida es igual al coeficiente de extinción (coeficiente de X) por la longitud del paso óptico de la celda (1 cm de longitud) según la Ley de Beer (12).

Con este mismo procedimiento se determina la concentración desconocida de las muestras problema sometidas al mismo tratamiento obteniendo la absorbancia del pico máximo a 354 nm de longitud de onda del espectro obtenido por muestra.

La concentración de oxitetraciclina en las muestras problema será igual a :

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Absorbancia}}{\text{Coeficiente de extinción}}$$

Los resultados obtenidos con base a los datos de la curva patrón de cada presentación se compararán mediante un análisis estadístico de varianza por repeticiones múltiples, MANOVA (Cuadro 7).

Los valores individuales en término de absorbancia y concentración en $\mu\text{g/ml}$ en suero de cada grupo se obtuvieron con respecto a la curva patrón realizada por cada presentación comercial.

VI. RESULTADOS

Se tomaron en total 300 muestras de sangre en un período de 120 horas a 20 vacas secas cuyas edades fluctuaron entre 2 y 3 años tomando como la hora cero el momento en que se aplicó la inyección intramuscular a cada animal.

En el cuadro 1 se aglutina la información relevante de este ensayo especificando por cada producto comercial utilizado la concentración en miligramos por mililitro, la dosis total utilizada por animal en miligramos y en mililitros, tiempo postinyección en que alcanza la máxima concentración, concentración plasmática máxima en $\mu\text{g/ml}$, tiempo postinyección de extinción del producto y concentración promedio de cada producto en las 120 horas.

Con los valores de concentración sérica obtenidos se realizó el análisis estadístico y se obtuvieron los promedios de mínimos cuadrados y las desviaciones estándar de cada grupo mostrando en la figura 3 la gráfica de las concentraciones séricas promedio de las cuatro presentaciones de oxitetraciclinas. Así mismo se presentan en las figuras 4, 5, 6 y 7 las tendencias de cada grupo.

La curva patrón realizada con base al estándar muestra un pico máximo a los 370 nm de longitud de onda en el espectro obtenido por lo que es imposible realizar una comparación real con base en esta curva, pues difieren los picos máximos por los diversos factores que intervienen en el desplazamiento como se explicará en el apartado de discusión (Figura 8).

En el cuadro 7 se presentan los datos relevantes del análisis estadístico realizado mediante un análisis de varianza con repeticiones múltiples que permite detectar que existen diferencias significativas en los niveles séricos a los tiempos ($p < 0.05$) 0.5, 1, 4, 60, 72, 84 y 120 horas post-inyección de Emicina L.A.® con respecto a los demás grupos como se observa en la Figura 3.

En los últimos dos tiempos post-inyección se detectan concentraciones del antibiótico en los cuatro grupos siendo de menor concentración Engemycin 10% L.A.® y Terramicina Plus®.

Es importante señalar que los valores anteriores se obtuvieron graficando las oxitetraciclinas con base en la curva patrón de cada producto y no conforme a un estándar oficial como ya se había señalado.

VII. DISCUSION

Este ensayo muestra diferencias entre los productos comerciales utilizados a través del método de determinación de oxitetraciclinas por el espectrofotómetro UV-VIS ya descrito; no obstante su precisión es inferior a la cromatografía de alta resolución, aunque infinitamente más económico. Es importante resaltar los innumerables factores que pueden alterar la lectura de los espectros obtenidos de las muestras problema y también de las estándar. Primeramente, el proceso de las muestras debe ser inmediato para evitar en lo posible la hemólisis y obtener un suero más transparente; el almacenamiento del suero procesado debe tener las condiciones apropiadas, ya que la conservación del suero por más de dos días en refrigeración a 2°C puede causar la desnaturalización de la oxitetraciclina o bien su quelación con algunos iones y por lo tanto se tendrán muestras problemas libres de oxitetraciclina o con concentraciones menores a las que deberían ser, siendo difícil poder recuperarlas después de haber realizado obtenido las muestras de sangre durante 5 días (22).

Por esto, es necesario contar con un cuarto frío para proveer la temperatura requerida para la conservación de las muestras realizando la lectura de las mismas en el espectrofotómetro lo más rápido posible después de haber sido procesadas.

En otro estudios se ha establecido la farmacocinética de las oxitetraciclinas. Punch *et al* (16) determinaron las concentraciones de este antibiótico en plasma y lágrimas en bovinos y obtuvieron picos máximos de concentración de 3.3 µg/ml en plasma a las 2.5 y 4 horas postinyección. Las concentraciones determinadas variaron entre 1 y 3 µg/ml en un lapso de 72 horas. Por otra parte Breeze y Gay (9) utilizaron oxitetraciclinas de larga acción (Pfizer, Liquamycin LA-200®) con una concentración de 200 mg/ml administradas via intramuscular a 3 grupos de bovinos; al primer grupo se le aplicó una dosis única de 9 mg/lb y al segundo la misma dosis pero redosificando a las 72 horas. La dosis para el tercer grupo fue del doble que el primero y sin redosificación. Con estos factores obtuvieron concentraciones mayores en el tercer grupo (14 mg/ml a las 3

horas post-inyección) y con los otros dos grupos concentraciones de 6-8 µg/ml aproximadamente a las 4 horas, evidentemente, el segundo grupo presentó dos picos máximos debido a la redosificación. Resalta en este estudio la detección de oxitetraciclinas hasta las 216 horas post-inyección en el segundo y tercer grupo, en el caso del primer grupo la oxitetraciclina se extingue después de las 120 horas. Estos resultados son similares a los obtenidos en este ensayo para Emicina L.A.®, lo que afirma la farmacocinética de este producto a nivel internacional.

En los ensayos mencionados se utilizaron métodos microbiológicos para la determinación de oxitetraciclinas, no siendo éste el caso del estudio realizado por Bengston, *et al.* (7) en el que a través del método fluorimétrico descrito por Wilson, *et al.* (21) determinaron concentraciones de oxitetraciclina en plasma y otros fluidos corporales, además de utilizar otros métodos para la detección conjunta de otros antibióticos como es el caso de la sulfadimidina que determinó de acuerdo al método espectrofotométrico descrito por Bratton y Marshall(6). Asimismo, Bengston, *et al.* (7) obtuvieron concentraciones de clorhidrato de oxitetraciclina de 1.68 ± 0.47 µg/ml (Terramicina 100®, Pfizer, NY) con una dosis de 10 mg/kg aplicada por vía endovenosa y en dos sitios de inyección por vía intramuscular. Se obtuvieron los datos de vida media del fármaco por su aplicación endovenosa resultando ser de 3.38 ± 1.80 horas, alcanzando concentraciones de 40 mg/ml a los 30 minutos y por vía intramuscular al mismo tiempo se detectaron niveles de oxitetraciclina de 0.8 µg/ml.

En la mayoría de los datos cinéticos obtenidos en estos estudios, no se especifica la formulación del o de los productos utilizados a excepción del trabajo realizado por Ames y Patterson (2) quienes determinaron la duración de una preparación de clorhidrato de oxitetraciclina de larga acción comparando su acción con una preparación estándar de oxitetraciclina administradas intramuscularmente a becerros neumónicos y sanos. Los valores farmacocinéticos plasmáticos difirieron entre las dos preparaciones. Comparativamente, la preparación de larga acción presentó un nivel

constante de concentración plasmática y un mayor volumen de distribución. La farmacocinética de las dos preparaciones no se alteró entre el grupo de becerros sanos y neumónicos. Los valores farmacocinéticos de este trabajo se analizaron mediante un programa de computación llamado KINA a través de regresiones no lineales. La preparación comercial fué de Emicina L.A.® 200 mg/ml y la estándar de 100 mg/ml. La vida media terminal fué mayor en la preparación comercial sosteniendo niveles séricos altos durante 3 y hasta 4 días debido a la propiedad de larga acción (2).

A pesar de que estos estudios permiten tener un panorama claro del destino y duración de las oxitetraciclinas en el organismo, es factible pensar que existen diferencias importantes en la cinética de las presentaciones comerciales de clorhidrato de oxitetraciclina, a lo que se le denomina bioequivalencia ; esto es, la forma en que se compara un mismo principio activo aplicado en distintas presentaciones comerciales.

En este ensayo utilizando el método de espectrofotometría UV-VIS se pudieron detectar diferencias. Tal es el caso de la concentración especificada de oxitetraciclina de cada producto como se puede apreciar en la figura 2 en que se muestran los espectros obtenidos de cada producto comercial con una misma concentración para cada uno y en los que se observa una diferencia de 50% entre el pico máximo y el segundo.

La literatura técnica de cada uno de los laboratorios indican que los productos de larga duración (120 horas) son Veterralent 20% L.A.®, Engemycin 10% L.A.® y Emicina L.A.®, sin embargo, los productos que pueden considerarse como tales son unicamente la Emicina L.A.® y el Veterralent 20% L.A.®, aunque la concentración plasmática promedio del primero es superior en un 35%. De las tetraciclinas evaluadas los niveles plasmáticos más elevados se obtuvieron para Emicina L.A.® tanto a las 0.5 y 4 horas postinyección lo que probablemente refleja una doble cinética de absorción permitiendo por una parte niveles plasmáticos iniciales más elevados y posteriormente concentraciones séricas más o menos constantes hasta las 120 horas, este mismo

comportamiento también se puede observar aunque no tan claramente con el Veterralent 20% L.A.[®] que a la 1 y 8 horas post-inyección muestra dos picos en su concentración pero que son menores a los detectados para la Emicina L.A.[®], por lo menos en un 95% en el primer pico. Los niveles de Emicina L.A.[®] se mantienen siempre arriba de los de Veterralent 20%L.A.[®]

Por otro lado es importante señalar que Engemycin 10% L.A.[®] indica en su literatura técnica que es con la dosis de 20 mg/kg posee una larga acción y aunque alcanza concentraciones detectables a las 120 horas estas son menores (1.25 mg/ml) y pueden no ser las concentraciones mínimas inhibitorias requeridas para atacar ciertos microorganismos. Por esto sería más útil para el médico veterinario conocer con precisión las horas de permanencia y concentración sérica promedio y no solamente el término poco preciso de larga acción.

Este mismo comentario se aplica también a las otras presentaciones comerciales de clorhidrato de oxitetraciclina evaluadas. Curiosamente la presentación de Terramicina Plus[®] no es considerada como larga acción pero ofrece una concentración semejante a la del Engemycin 10% L.A.[®] Las concentraciones promedio, máximas y mínimas no difieren en mucho y la concentración promedio sólo es mayor en un 1.7% sobre la Terramicina Plus[®], con lo que se refuerza la propuesta de eliminar el término ambiguo de larga acción o duración y sustituirlo por las horas precisas de duración del producto y concentración sérica promedio.

Este ensayo no fue diseñado para evaluar la eficacia terapéutica de los productos comerciales probados, el objetivo primordial fue definir las bioequivalencias de los productos comerciales de oxitetraciclinas más utilizados de larga acción para que el médico veterinario pueda utilizar con mayor conocimiento cada uno de los productos según el caso clínico en cuestión. Por ejemplo, si el clínico considera que requiere una oxitetraciclina de una duración eficaz superior a las 100 horas puede recurrir a la

utilización de Emicina L.A.[®] y Veterralent 20% L.A.[®], pero si prefiere redosificar o suspender el tratamiento aproximadamente a las 72 horas entonces puede elegir el uso de Terramicina Plus[®] si requiere menos de 72 horas efectivas o Engemycin 10% L.A.[®] si lo desea hacer entre las 72 y las 96 horas que es cuando los niveles séricos de éstas empiezan a descender. De cualquier manera lo que resulta evidente es que los organismos encargados de la aprobación para el uso de medicamentos de patente deben exigir la realización de estudios cinéticos más profundos antes de aprobar su comercialización, o bien cuidar que la literatura técnica de cada producto contenga especificaciones precisas y veraces de acuerdo a las pruebas de control a las que fueron sometidos. Asimismo, sería aconsejable que se lleven a cabo pruebas rutinarias de pureza química de los productos comercializados en el mercado veterinario.

VIII. LITERATURA CITADA

- 1.- Archimbault, Ph; Ambrogi, G and Wackowicz, G.: Biodisponibilidad plasmática comparativa de dos formulaciones a base de oxitetraciclina 20% L.A. *Med Ver.6:* 15-19 (1989).
- 2.- Ames, T. R. and Patterson, E.B.: Oxytetracycline concentrations in plasma and lung of healty and pneumonic calves, using two tetracycline preparations. *Am J Vet Res. 46:* 2471-2473 (1985).
- 3.- Aronson, A. L.: Pharmacotherapeutics of the newer tetracyclines. *J. Am Vet. Assoc.*, 1061-1068 (1980).
- 4.- Bagoot, J. D.: Principles of drug disposition in domestic animals. *Basic Vet Clin Pharmacol. 14:*72 (1977).
- 5.- Bagoot, J. D.: Systemic antimicrobial therapy in large animals. In: Pharmacological Basis of large Animal Medicine. edited by Bogan, J.A., Less,P., Yoxall, A.T., 45-69 *Blackwell Scientific Publications*. London,1983.
- 6.- Bratton, A. C. and Marshall, E. K.: A new coupling component for sulfanilamide determination. *J Biol Chem. 128:* 537-550 (1939).
- 7.- Bengtsson, B; Franklin, A; Luthman, J. and Jacobsson, O.: Concentrations of sulphadimidine, oxytetracycline and penicillin G in serum, synovial fluid and tissue cage fluid after parenteral administration to calves. *J Vet Pharmacol Therap. 12.* 37-45 (1989).

- 8.- Bishop, J. R.; Bodine, A. B.; O'Dell, G. D. and Janzen, J. J.: Retention Data for Antibiotics commonly used for bovine infections. *J. Dairy Sci.*, 67: 473-490 (1984).
- 9.- Breeze, R. and Gay, C.: Plasma levels of 1 long-acting oxytetracycline in cattle. *Bov Pract.*,16: 22-23 (1981).
- 10.- Burrows, G. E; Barto, P. B and Martin, B.: Comparative pharmacokinetics of gentamicin, neomycin and oxitetracycline in newborn calves. *J Vet Pharmacol Therap.* 10: 54-63 (1987).
- 11.- Burows, G. E.: Systemic antibacterial drug selection and dosage. *Bov Pract.*, 15: 103-110 (1980).
- 12.- Cutting, A. T.: Manual of Spectroscopy. *Chemical publishing*. N.Y. 1949
- 13.- Huber, W.G.:Tetracyclines, In: Veterinary Pharmacology and Therapeutics . 5th. Ed. Edited by Booth, N. N. H. and Mc Donald, L.E. 727-747. *The Iowa State University Press*. Iowa, 1982.
- 14.- Kempf, I; Ollivier, C.; L'hospitalier, R.; Guittet, M. and Benejean,G.:Concentration minimales inhibitrices de 13 antibiotiques vis-a-vis de 21 souches de mycoplasmes des vollailles.*Lé point vétérinaire.* 20: 83-88 (1989).
- 15.- Miller, G.E. and Bergt, G.E.: Oxytetracycline in Bovine plasma, milk, and urine after intrauterine administration. *J Dairy Sci.* 59: 315-317 (1976).
- 16.- Punch, P. I; Costa, N. D; Chambers, D .H; Slatter, G. E. and Wilcox, G. E.: Plasma and tear concentrations of antibiotics administered parenterally to cattle. *Res Vet Sci.* 39: 179-187 (1984)

- 17.- Shriner, L. R; Fuson, C. R. and Curtin, Y. D.: Identificación de compuestos orgánicos. *LIMUSA*. 1987
- 18.- Sumano, L. H: Farmacología Clínica en Bovinos. *Sumat*. México, D.F. 1990.
- 19.- Sumano, L. H. y Ocampo, C. L.: Farmacología Veterinaria. *Mc Graw Hill*. México, 1988.
- 20.- Terhune, T. and Upson, D.: Oxitetracycline pharmacokinetics, tissue depletion, and toxicity after administration of long-acting preparation at double the label dosage. *JAVMA*. 194: 911-917 (1989).
- 21.- Wilson, D. M; Brosnan, E. A. and Stilwell, A.: A simplified tetracycline assay. *Clinica Chimica Acta*. 36: 260-261 (1972).
- 22.- Wilson-Gisvald, J.; Textbook of Organic Medical Pharmaceutical Chemistry. *Mc Graw Hill*. USA, 1989
- 23.- Ziv, G; Wanner, M; Nicolet, J.: Distribution of penicillin G, dihydrostreptomycin, oxytetracycline, and chloramphenicol in serum and subcutaneous chamber fluid. *J Vet Pharmacol Therap*. 5: 59-69 (1982).

IX. CUADROS

Cuadro 1. Recopilación de los resultados obtenidos de las muestras tomadas de las 4 presentaciones comerciales de clorhidrato de oxitetraciclina utilizando una dosis de 20 mg/kg.

NOMBRE DEL PRODUCTO	CONCENTRACIÓN DEL PRODUCTO mg/ml	ml TOTALES POR ANIMAL	mg TOTALES POR ANIMAL	TIEMPO A LA MÁXIMA CONCENTRACIÓN	CONCENTRACIÓN MÁXIMA	CONCENTRACIÓN PROMEDIO
Emicina L.A. 200	200 mg/ml	60 ml	12,000 mg	0.5 horas 4 horas	19.5 µg/ml 24.1 µg/ml	10.5 µg/ml
Veterrant 20% L.A.	200 mg/ml	60 ml	12,000 mg	1.0 horas 8 horas	9.9 µg/ml 16.7 µg/ml	7.82 µg/ml
Engemycin 10% L.A	100 mg/ml	120 ml	12,000 mg	8 horas	7.8 µg/ml	4.2 µg/ml
Terramicina Plus	100 mg/ml	120 ml	12,000 mg	8 horas	7.2 µg/ml	4.1 µg/ml

Cuadro 2. Concentraciones promedio de las 4 presentaciones comerciales en los diferentes tiempos postinyección utilizando una dosis de 20 mg/kg.

TIEMPO HORAS POST- INYECCIÓN	CONCENTRACIÓN DE LA DROGA $\mu\text{g/ml}$			
	VETERRALENT 20% L.A	EMICINA L.A.	ENGEMYCIN 10% L.A.	TERRAMICINA PLUS
0.5	5.05	12.18	2.96	6.55
1	9.95	19.52	3.96	4.81
2	4.11	8.43	4.1	3.24
4	4.59	24.1	4.17	5.81
8	16.69	11.84	7.86	7.21
12	9.73	10.69	6.84	6.04
24	8.99	9.55	5.52	4.64
36	8.23	8.65	5.37	6.56
48	8.52	8.96	4.93	3.05
60	8.06	8.56	4.96	2.83
72	6.58	8.41	3.46	2.74
84	6.59	7.93	3.34	2.73
96	4.9	6.41	3.26	2.27
108	4.82	6.05	1.43	1.75
120	3.99	7.05	1.26	1.58

Cuadro 3.- VETERRALENT 20% L.A. Concentración y absorbancia obtenidas en base a la curva patrón de la presentación comercial:suero

HORA POSTINYECCIÓN	0.5	1	2	4	8	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120
CONCENTRACIÓN $\mu\text{g/ml}$	5.05	9.95	4.11	4.59	16.7	9.73	8.99	8.23	8.52	8.06	6.58	6.59	4.90	4.82	3.99
ABSORBANCIA 354 nm	.0641	.1235	.0522	.0582	.2118	.1235	.1141	.1044	.1081	.1023	.0834	.0837	.0622	.0612	.0507

Referencia base presentación comercial

Coefficiente de extinción: 0.12693

Concentración sérica promedio: 7.83 $\mu\text{g/ml}$

Concentración sérica máxima: 9.95 $\mu\text{g/ml}$ y 16.69 $\mu\text{g/ml}$

Tiempo postinyección con la máxima concentración sérica: 1^a y 4 horas postinyección

Cuadro 4.- ENGEMYCIN 10% L.A. Concentración y absorbancia obtenidas en base a la curva patrón de la presentación comercial:suero.

HORA POSTINYECCIÓN	0.5	1	2	4	8	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120
CONCENTRACIÓN µg/ml	2.96	3.96	4.10	4.17	7.86	6.84	5.52	5.37	4.93	4.96	3.46	3.34	3.26	1.43	1.26
ABSORBANCIA 354 nm	.0585	.0784	.0812	.0826	.1554	.1354	.1091	.1061	.0975	.0981	.0683	.0661	.0645	.0283	.0248

Referencia base presentación comercial

Coefficiente de extinción: 0.01978

Concentración sérica promedio: 4.2012 µg/ml

Concentración sérica máxima: 7.8605 µg/ml

Tiempo postinyección con la máxima concentración sérica: 8 horas

Cuadro 5.- TERRAMICINA PLUS. Concentración y absorbancia obtenidas en base a la curva patrón de la presentación comercial: suero.

HORA POSTINYECCIÓN	0.5	1	2	4	8	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120
CONCENTRACIÓN µg/ml	6.55	4.81	3.24	5.81	7.21	6.04	4.64	6.56	3.05	2.83	2.74	2.73	2.27	1.75	1.58
ABSORBANCIA 354 nm	.1286	.0943	.0636	.1140	.1414	.1185	.1008	.1286	.0598	.0305	.0538	.0535	.0446	.0343	.0309

Referencia base presentación comercial

Coefficiente de extinción: .01961

Concentración sérica promedio: 4.1294 µg/ml

Concentración sérica máxima: 7.21157 µg/ml

Tiempo post-inyección con la máxima concentración sérica: 8 horas

CUADRO 6. EMICINA L.A. Concentración y absorbancia obtenidas en base a la curva patrón de la presentación comercial: suero.

HORA POSTINYECCIÓN	0.5	1	2	4	8	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120
CONCENTRACIÓN $\mu\text{g/ml}$	12.18	19.52	8.43	24.1	11.84	10.69	9.55	8.65	8.95	8.56	8.41	7.93	6.41	6.05	7.05
ABSORBANCIA 354 nm	.4118	.659	.285	.815	.401	.362	.323	.292	.289	.302	.289	.284	.268	.2167	.238

Referencia base presentación comercial.

Coefficiente de extinción: 0.03381

Concentración sérica promedio: 10.55 mg/ml

Concentración sérica máxima: 19.52 y 24.69 $\mu\text{g/ml}$

ESTE TEXTO ES UN RESUMEN DE LA TESIS

CUADRO 7. DATOS RELEVANTES DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO*SIGNIFICANCIA (P > 0.05)**DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LOS PROMEDIOS POR CADA GRUPO*

DESVIACIÓN STÁNDAR σ RESPECTO A LOS PROMEDIOS DE CADA GRUPO.					
TIEMPO POSTINYECCIÓN	ENGENMYCIN 10% L.A.	TERRAMICINA PLUS	VETERRALENT 20% L.A.	EMICINA L.A.	P > 0.05
0.5	1.234	1.296	2.182	3.223	0.0001
1	2.317	2.708	2.956	8.700	0.025
2	3.150	1.825	2.170	3.092	0.099
4	3.281	0.590	7.558	1.348	0.0003
8	4.037	1.251	3.918	2.127	0.265
12	5.681	1.402	2.037	3.843	0.290
24	1.935	1.091	4.272	1.535	0.062
36	3.716	2.744	2.737	1.974	0.443
48	4.433	1.999	7.184	0.9228	0.284
60	2.393	2.768	3.105	1.939	0.030
72	0.358	0.821	3.343	2.439	0.019
84	1.914	0.346	2.559	0.657	0.022
96	1.267	0.230	5.649	1.424	0.215
108	1.674	1.612	3.920	3.386	0.105
120	0.710	0.617	3.312	3.227	0.036

X. FIGURAS

**ESPECTRO DE OXITETRACICLINA CON
DOS PICOS MÁXIMOS**

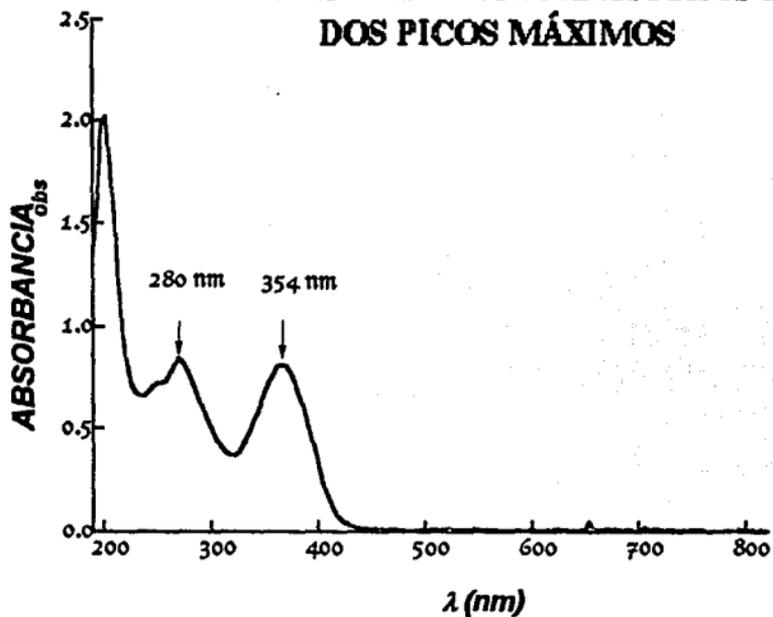


FIGURA 1

**ESPECTROS DE CUATRO PRESENTACIONES COMERCIALES
CON 6.6 μ g/mL DE
OXITETRACICLINA BASE EN SUBRO**

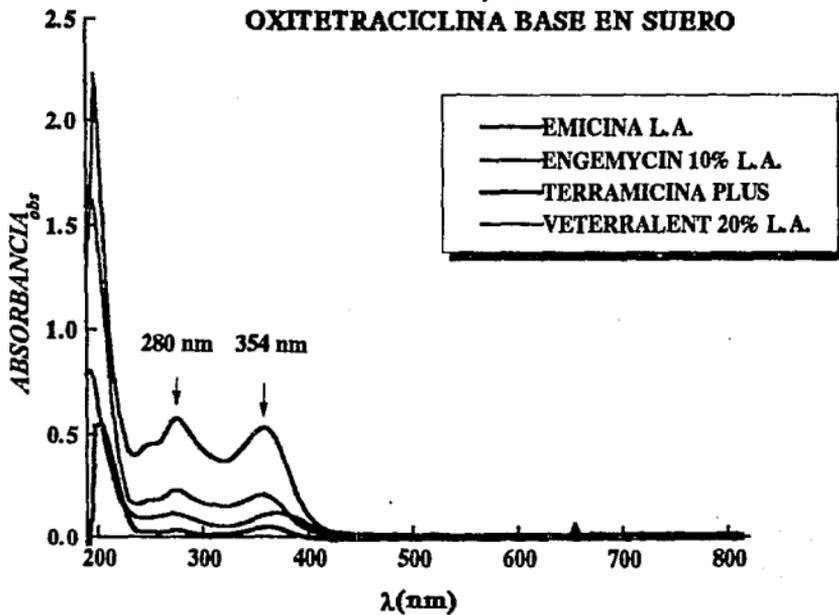


FIGURA 2

**CONCENTRACIÓN SÉRICA PROMEDIO DE 4 PRESENTACIONES
COMERCIALES DE OXITETRACICLINA DURANTE 120 HORAS
POSTINYECCIÓN**

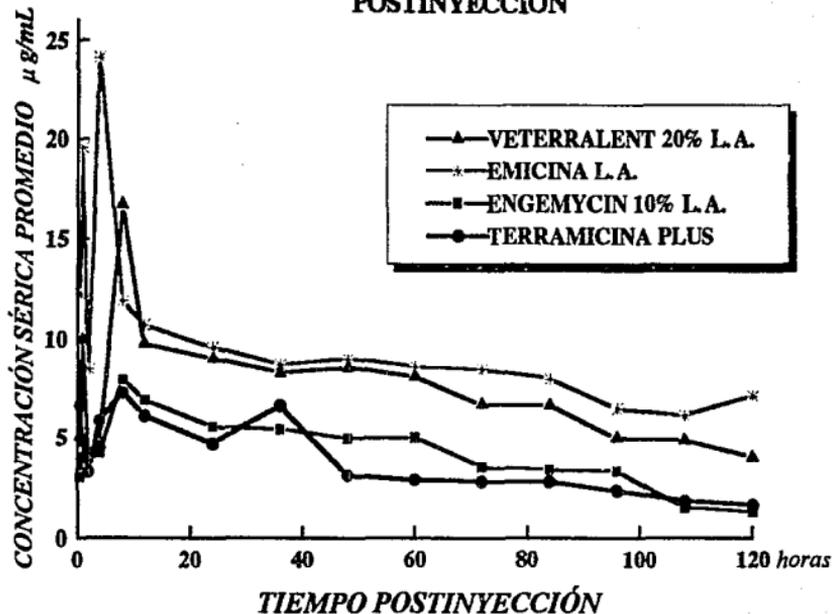


FIGURA 3

VETERRALENT 20% L.A

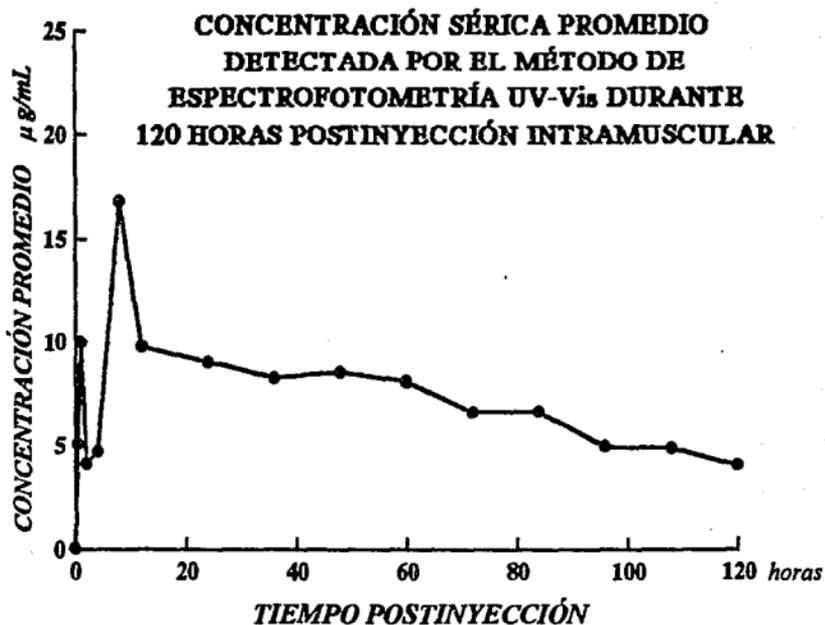


FIGURA 4

ENGEMYCIN 10% L.A.

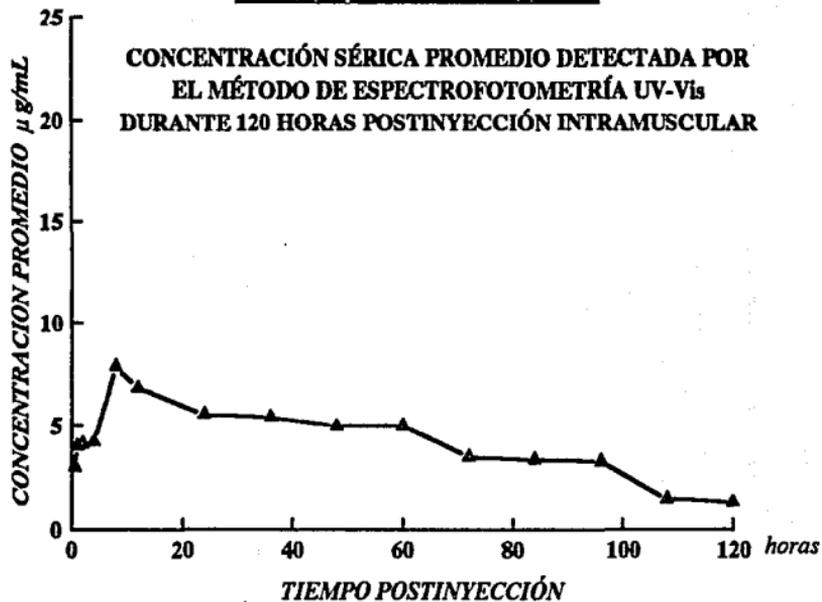


FIGURA 5

EMICINA L.A.

CONCENTRACIÓN SÉRICA PROMEDIO DETECTADA POR
EL MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS
DURANTE 120 HORAS POSTINYECCIÓN INTRAMUSCULAR

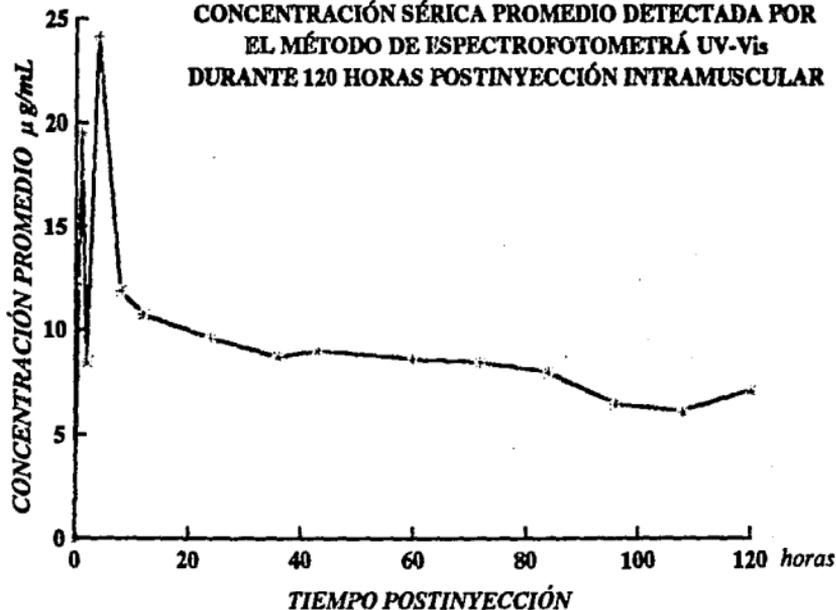


FIGURA 6

TERRAMICINA PLUS

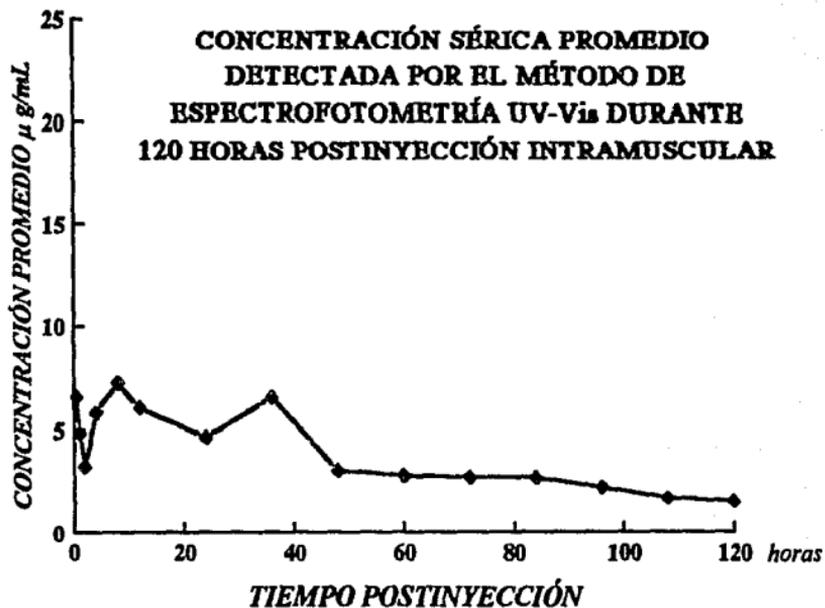


FIGURA 7

**ESPECTROS DE OXITETRACICLINA ESTÁNDAR
Y PRESENTACIÓN COMERCIAL
EN AGUA DESTILADA**

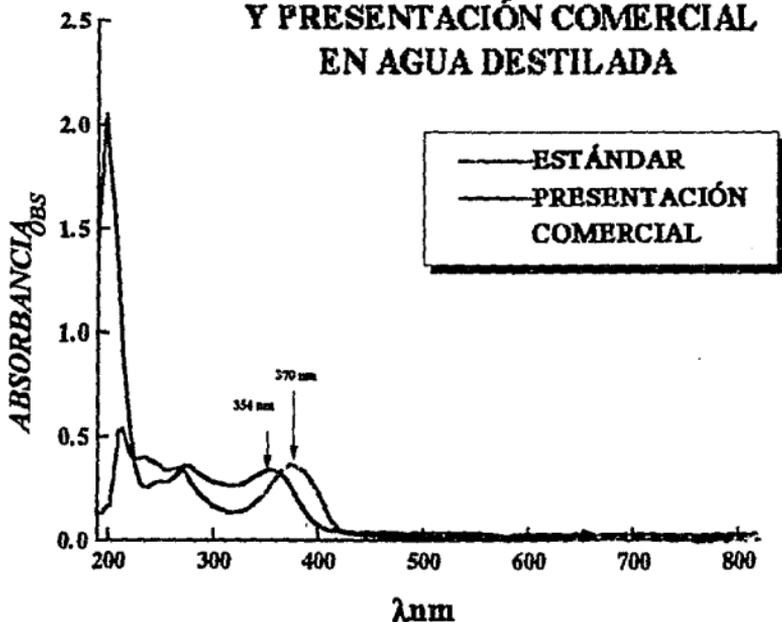


FIGURA 8