

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

FARMACOCINÉTICA ORAL Y PARENTERAL DEL SOLVATO DE  
ENROFLOXACINA CLORHIDRATO-DIHIDRATO (ENRO-C) EN  
CERDOS.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

MARICARMEN ELIUD ROMÁN BUENDÍA

Asesores:

MVZ Lilia Gutiérrez Olvera  
MVZ Héctor Sumano López

Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

2022



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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 esta 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.

## DEDICATORIA

A mis padres, familia, amigos, profesores y todos aquellos que a lo largo de mi formación académica me han brindado su apoyo y comprensión.

## AGRADECIMIENTOS

A mis asesores de tesis la Dra. Lilia Gutiérrez y el Dr. Héctor Sumano por mostrarme lo fascinante que es la farmacología.

Al Departamento de fisiología y farmacología de la FMVZ-UNAM por abrirme las puertas y permitirme usar su laboratorio.

Al CEIEPP y al Dr. Oscar Gutiérrez por permitirme realizar las pruebas experimentales, brindarme la atención y apoyo necesario para realizar este proyecto.

Al Dr. Luis Ocampo por la oportunidad que me brindó al ser su ayudante, por todas las enseñanzas y conocimientos ofrecidos durante todo este tiempo.

Al Dr Itzcoatl por su apoyo y consejo a lo largo de la carrera y proceso de titulación.

Un agradecimiento especial al Dr Agustín Nieto, a Fer, Lis, Anita por apoyarme en la toma de muestras, a la Sra. Feli por la atención y apoyo durante el procesamiento de muestras.

## CONTENIDO

CONTENIDO DE FIGURAS	V
CONTENIDO DE CUADROS	VI
RESUMEN	- 8 -
INTRODUCCIÓN	- 10 -
MATERIAL Y MÉTODOS	- 17 -
RESULTADOS	- 24 -
DISCUSIÓN	- 32 -
CONCLUSIONES	- 35 -
REFERENCIAS	- 37 -

## CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. Formulas estructurales de la enrofloxacin y del solvato recristalizado:  
enrofloxacin HCl· H<sub>2</sub>O - 11 -

Figura 2. Media  $\pm$  1DE de las concentraciones de enrofloxacin en suero de cerdos a partir de inyecciones IM de dos derivados: enrofloxacin base (Baytril®) a dosis de 10 mg/kg y enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O (enro-C) a dosis de 10 mg/kg. Escala aritmética en ambos ejes. - 25 -

Figura 3. Media  $\pm$  1DE de las concentraciones de enrofloxacin en suero de cerdos a partir de inyecciones IM de 5 mg/kg de dos derivados: enrofloxacin base (Baytril®) y enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O (enro-C). Escala aritmética en ambos ejes.- 27 -

Figura 4. Media  $\pm$  1DE de las concentraciones de enrofloxacin en suero de cerdos a partir de su administraci3n en el agua de bebida a dosis de 10 mg/kg de dos derivados: enrofloxacin base (Baytril®) y enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O (enro-C). Escala aritmética en ambos ejes. - 30 -

Figura 5. Media  $\pm$  1DE de las concentraciones de enrofloxacin en suero de cerdos a partir de inyecciones IM de dos derivados: enrofloxacin base (Baytril®) a dosis de 10 mg/kg y 5 mg/kg, enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O (Enro-C) a dosis de 5 mg/kg y 10 mg/kg y en agua de bebida a 10 mg/kg: enrofloxacin base y enro-C. Escala Log<sub>10</sub>/aritmética en Y y X, respectivamente. - 31 -

## CONTENIDO DE CUADROS

**Cuadro 1.** - 21 -

Concentraciones obtenidas a partir de la dilución de enrofloxacin en agua desionizada

**Cuadro 2.** - 24 -

Promedio  $\pm$  desviación estándar ( $\pm$ de) de las concentraciones séricas en los diferentes tiempos de muestreo después de la administración im de los tratamientos a dosis única de 10 mg/kg.

**Cuadro 3.** - 26 -

Promedio  $\pm$  desviación estándar ( $\pm$ de) de las concentraciones séricas en los diferentes tiempos de muestreo después de la administración im de los tratamientos a dosis única de 5 mg/kg.

**Cuadro 4.** - 28 -

Promedio de los parámetros farmacocinéticos clave, obtenidos a partir de las concentraciones séricas de enro-c y enrofloxacin de referencia en cerdos que recibieron ambos fármacos a dosis de 5 o 10 mg/kg, vías im u oral.

**Cuadro 5.** - 29 -

Promedio  $\pm$  desviación estándar ( $\pm$ de) de las concentraciones séricas en los diferentes tiempos de muestreo después de la administración en el agua de bebida de los preparados enro-c o enrofloxacin de referencia, a dosis de 10 mg/kg

calculando la dosis teórica con base en el consumo de agua esperado (100 ml/kg/día) y a una concentración del 0.1% (10 g/100 l de agua).



## RESUMEN

ROMÁN BUENDÍA MARICARMEN ELIUD. Farmacocinética oral y parenteral del solvato de enrofloxacin clorhidrato-dihidrato (enro-c) en cerdos. (Bajo la dirección de: MVZ Lilia Gutiérrez Olvera y MVZ Héctor Sumano López)

Se reconoce que la eficacia clínica de la enrofloxacin en cerdos es dependiente de lograr una concentración plasmática máxima, al menos 10 – 12 veces mayor el valor de la concentración mínima inhibitoria del patógeno a tratar ( $C_{max}/CMI \geq 10-12$ ) y alternativamente de que el área bajo la curva de concentración sérica en el tiempo (24 horas) dividida por la CMI sea mayor a 120 ( $AUC_{0-24}/CMI \geq 120$ ). En la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México se tiene patentado un solvato recristalizado de enrofloxacin, bautizado como enro-C (HCl-2H<sub>2</sub>O enrofloxacin) que ha demostrado lograr valores notablemente más altos de C<sub>max</sub> en perros, aves domésticas y bovinos. Además, se ha reducido su sabor en gran medida y esto pudiera representar una ventaja para la medicación de los cerdos vía el agua de beber. Dado que no se conoce la farmacocinética comparativa de la enro-C y la enrofloxacin de referencia en cerdos, se realizó este estudio, administrando los preparados tanto por vía IM como oral en el agua de bebida. Los resultados obtenidos tras la administración de enrofloxacin vía IM a dosis de 10 mg/kg indican que el grupo tratado con enro-C logró mayores concentraciones séricas mostrando una C<sub>max</sub> de 3.05 µg/mL y un AUC de 13.53 µg/mL/h, en comparación a las alcanzadas por enrofloxacin de referencia, en las que se obtuvieron una C<sub>max</sub> y un AUC<sub>0-24</sub> de 2.17 µg/mL y 8.73

$\mu\text{g/mL/h}$ , respectivamente. Esto es, se mejoran estas variables sensibles en aproximadamente 40% y por ello se le postula como una opción farmacológica novedosa y potente para esta especie. En relación con los preparados enro-C y enrofloxacin de referencia, administrados en el agua de bebida, se determinó que no resultaron viables para dosificarse por esta vía a esta especie, dado el rechazo de los cerdos al agua medicada pues no se logran variables PK/PD adecuadas.

**Palabras clave:** enrofloxacin, enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O, enro-C, cerdos, farmacocinética, PK/PD

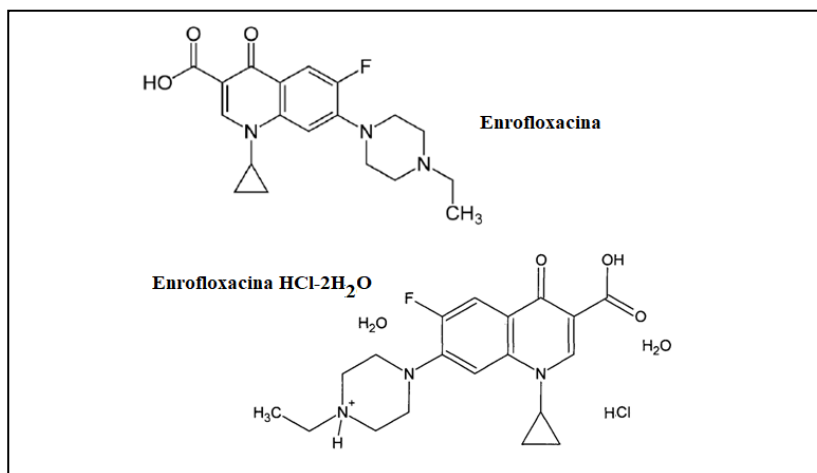
## INTRODUCCIÓN

El uso de antibacterianos en Medicina Veterinaria y Zootecnia está cada vez más restringido, la OMS y la FAO trabajan en lineamientos que registren su uso en el área pecuaria, limitando cada vez más los antibióticos que podrán ser utilizados en los animales de producción, todo esto derivado de las nuevas políticas de “Una sola salud”, en la cual el surgimiento de resistencias bacterianas debe ser cuidado tanto en el ámbito humano como en el veterinario. En ambos casos las resistencias bacterianas se derivan del sobreuso y mal uso de los antibacterianos, los conceptos de farmacocinética/farmacodinamia (PK/PD) no son adecuadamente aplicados en ambos ámbitos clínicos. Las subdosificaciones, falta de bioequivalencias, malos esquemas de dosificación han llevado a la humanidad a regresar a una era “pre-antibiótica en la cual la muerte por resistencias bacterianas va en aumento. La responsabilidad del médico veterinario zootecnista de mantener la viabilidad de los principios activos debe ser prioridad en su clínica diaria.

El rediseño farmacéutico y uso correcto de antibacterianos debe ser premisa en cada especie pecuaria para lograr no solamente curas clínicas, es necesario lograr curas bacteriológicas. Para lo cual es necesario conocer y comprender los conceptos PK/PD de cada familia antibacteriana, ajustando los esquemas de dosificación ya sea para un antibacteriano tiempo dependiente como las penicilinas y cefalosporinas, o concentración dependiente como las fluoroquinolonas.

Después de la flumequina, la enrofloxacin es la primera fluoroquinolona autorizada para uso exclusivo en veterinaria(1). Por la biodisponibilidad y el espectro que

presenta es considerada de tercera generación (2–4), y su origen es sintético como el resto de los fármacos pertenecientes a esta familia. Su fórmula desarrollada es: 1-ciclopropilo-7-(4-etilo-1-piperazinilo)-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-3 ácido quinolincarboxílico (5) y su estructura molecular se presenta en la figura 1.



**Figura 1.** Formulas estructurales de la enrofloxacin y del solvato recristalizado: enrofloxacin HCl· H<sub>2</sub>O

El mecanismo de acción de la enrofloxacin se basa en la inhibición de la enzima DNA-girasa también conocida como topoisomerasa II que realiza una ruptura transitoria en una de las hélices del ADN a nivel del superenrollamiento cuando se forma la horquilla de replicación. Con esto, se evita el estrés por tensión al que se sujetaría el material genético del microorganismo. Pero cuando se va a dividir el microorganismo o cuando se requiere de la síntesis de proteína, se debe desenrollar y sufrir una torsión inversa (*negative twisting* en inglés). Estas acciones son

necesarias para la replicación y transcripción del ADN bacteriano (1,6). Se postula que la enrofloxacin interactúa con la topoisomerasa II y evita el desenrollamiento del ADN bacteriano creando un efecto bacteriostático. Además, se ha encontrado que genera rupturas a nivel de las hélices con lo que su efecto es irreversible y la enzima ya no puede restaurar la cadena generando un efecto bactericida.

La enrofloxacin tiene buena absorción después de su aplicación intramuscular (IM) y se ha demostrado su absorción al administrarse por vía oral (PO) en cerdos mediante sonda gástrica de manera experimental (4), a pesar de que los preparados al 5 y al 10% del producto pionero tiene un pH superior a 10.5 (7). Tiene de buena a muy buena difusión a los tejidos con un volumen de distribución que fluctúa en torno a  $3.59 \pm 1.3$  L/Kg. Presenta una unión a proteínas plasmáticas del 31.1% a 37.1% teniendo menor porcentaje de unión al presentarse en mayor concentración plasmática (8). Se considera que su eliminación es de rápida a moderadamente rápida en muchas especies incluyendo el cerdo (9), aunque se ha descrito que en esta especie la eliminación es más lenta. No obstante, el intervalo de dosificación que se recomienda es de 24 horas (8). La excreción es casi exclusivamente por vía renal mediante filtración glomerular y secreción tubular activa tanto de la enrofloxacin como de su metabolito más importante, la ciprofloxacina (6).

En particular en cerdos, cuando se le administra en el agua de bebida, su biodisponibilidad se reduce drásticamente, tanto por el metabolismo de primer paso que modifica al fármaco siguiendo las rutas de oxidación y glucuronidación, como por que los cerdos tienden a rechazar de manera muy clara el agua medicada.

Como se comentó, el metabolito más relevante que se obtiene es la ciprofloxacina y en conjunto con la enrofloxacin tienen un efecto potenciado in vivo, lo que explica en parte su notable eficacia clínica (1,8,10,11).

Debido a que este antimicrobiano muestra mayor eficacia clínica al administrarse altas dosis a fin de lograr valores elevados de la concentración pico ( $C_{max}$ ) y/o del área bajo la curva de la concentración plasmática vs tiempo en 24 horas ( $AUC_{0-24}$ ), se le ha clasificado como un antibacteriano dependiente de la concentración (12). Esto es, dado que las fluoroquinolonas muestran actividades dependientes de la concentración, las proporciones  $C_{max}/CMI$  Y  $AUC_{0-24}/CMI$  pueden ser críticas para la eficacia clínica. En los Estados Unidos Norteamérica, las dosis para enfermedades respiratorias agudas son de 2.5 a 5 mg/kg durante 3 días o de 7.5 a 12.5 mg/kg una vez sí es que está autorizada la presentación de larga acción (LA). Es probable que las dosis más altas en una sola ocasión confieran relaciones  $C_{max}/CMI$  que se asocien con una mayor eficacia clínica. Por lo tanto, en la clínica se debe utilizar una dosis que permita cumplir con una o las dos relaciones PK/PD dichas, esto es que  $C_{max}/CMI \geq 10-12$  y que  $AUC_{0-24}/CMI \geq 125$  (13).

En México, se tiene una nueva enrofloxacin recristalizada como la enrofloxacin HCL·2H<sub>2</sub>O (Enro-C) (Patente UNAM: MX/a/2013/014605; Instituto Mexicano de la Protección Industrial, CdMx). Se le ha caracterizado químicamente (5,14) y se le considera un recristalizado-solvato con mayor solubilidad en agua, en comparación con la enrofloxacin y en pruebas empíricas, tiene una notable reducción del sabor amargo que presenta la enrofloxacin comercial. En suspensión tiene un pH de 6.2-

6.8 y tras su infusión intramamaria en vacas muestra valores de  $C_{max}$  y  $AUC_{0-24}$  especialmente elevados (15) así como una destacada eficacia clínica en el tratamiento de la mastitis (16). La Enro-C ha mostrado una mayor biodisponibilidad oral en pollos que Enro-R (5) y en comparación con Enro-R, la inyección IM de Enro-C mostró valores particularmente altos de  $C_{max}$  y  $AUC_{0-24}$  en hámsteres (17), y también después de la administración oral e intramuscular en perros (18). Además, la inyección subcutánea o intramuscular de la suspensión de Enro-C se acompaña de molestias mínimas en la mayoría de las especies, incluyendo los bovinos, perros, gatos, etc. (19).

Dado que Enro-C ha logrado concentraciones especialmente elevadas en estudios realizados en varias especies (13,17,18) y que tiene un pH neutro en suspensión, es considerable evaluar su eficacia en términos de las variables ya detalladas como clave  $C_{max}$  y  $AUC_{0-24}$ . Para ello se utilizará un prototipo desarrollado en el Departamento de Fisiología y Farmacología de la FMVZ, UNAM y se determinará su farmacocinética después de su administración oral e IM. Como punto comparativo se utilizará el preparado referente de Baytril 10%®.

Es importante señalar que en cerdos no se recomienda la administración de antibióticos en agua de bebida (20). A pesar de ello en grandes producciones es común la administración de este preparado por esta vía, en un intento de abatir el manejo y trabajo implícitos en la inyección de un gran número de animales.

## **Justificación**

La relevancia de este proyecto radica en la necesidad de formular nuevos antibióticos, debido a la resistencia a los agentes antimicrobianos (RAM) que se ha observado en las bacterias en la última década.

El presente trabajo, tiene el fin de describir la farmacocinética de la Enro C, con el objetivo de obtener los parámetros farmacocinéticos: C<sub>max</sub>, AUC y su relación con la CMI, para conocer su eficacia clínica, si bien existe diversa investigación al respecto, no se ha abordado un protocolo específico para el estudio farmacocinético en cerdos, por lo que se espera que el alcance teórico aquí descrito tenga apertura a nuevas investigaciones para este fármaco, brindando así información valiosa.

Los resultados de esta investigación son cruciales para obtener la dosis adecuada y capaz de combatir a patógenos comunes en la producción porcina, además de fomentar al uso responsable y prudente de este fármaco contribuyendo así a una sola salud.

## **Hipótesis**

La administración de Enrofloxacin C vía intramuscular a dosis de 10mg/kg ofrece valores de C<sub>MAX</sub> estadísticamente indistinguibles de la inyección de Baytril 10% a dosis de 10mg/kg vía intramuscular (IM).

La administración de Enrofloxacin C en el agua de bebida a dosis de 10mg/kg ofrece valores de C<sub>max</sub> estadísticamente distinguibles de la administración de Baytril 10% a dosis de 10mg/kg en agua de bebida



## **Objetivo**

Determinar si la administración de Enro-C en el agua de bebida o IM a dosis de 10 mg/kg tiene valores de  $C_{MAX}$  y  $AUC_{0-24}$  estadísticamente indistinguibles a los presentados con la administración de enrofloxacin de referencia a dosis 10 mg/kg.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

**LUGAR.** El trabajo se llevó a cabo en el centro de enseñanza, investigación y extensión de producción porcina (CEIEPP) ubicado en el Km. 2 de la carretera Jilotepec-Corrales, en Jilotepec, Estado de México.

El CEIEPP cuenta con 130 vientres con un sistema de producción de ciclo completo, por ende, cuenta con área de cuarentena, servicios, gestación, maternidad, destete y engorda.

**ANIMALES.** Se eligieron 48 cerdos de 5 semanas de edad clínicamente sanos, sin medicación previa al momento del estudio, con un peso promedio de  $10\text{kg} \pm 2\text{kg}$  provenientes del área de destete dos y tres del CEIEPP. En esta área los cerdos se encuentran en jaulas elevadas para lechones, agrupados de tal forma que se respeta su espacio vital, número de bebederos y comederos.

**IDENTIFICACIÓN.** Se dividieron en 4 grupos mixtos (hembras y machos) de 12 cerdos cada uno, cada cerdo se pesó individualmente para una dosificación adecuada.

Los cerdos ya se encontraban agrupados por parte de la granja, con el fin de impedir peleas y disminuir al máximo el estrés por manejo se evitó la reagrupación de éstos, para lograrlo se identificó numéricamente en el dorso a cada cerdo con marcador para ganado, asignando un color diferente a cada grupo, se aseguró mantener visible el número de la marca durante toda la prueba con el fin de identificar a cada cerdo de manera individual y mantener un control para aplicación del fármaco y toma de muestras.

**ALIMENTACIÓN Y AGUA DE BEBIDA.** En ninguno de los grupos hubo restricción o cambios en el alimento, ya que se siguieron los parámetros de alimentación de la granja. El agua de bebida se ofreció ad libitum en los grupos 1 y 2, mientras que en el grupo 3 y 4 se retiró el suministro de agua dos horas antes de iniciar el protocolo para asegurar un consumo y medicar de forma adecuada.

**ADMINISTRACIÓN DEL FÁRMACO.** A los grupos Enro<sub>b5</sub> y Enro<sub>b10</sub> se les administro enrofloxacin base (Baytril ® 10%) vía IM en el área del cuello detrás de la base de la oreja a una dosis de 5 mg/kg y 10 mg/kg respectivamente mediante jeringa de 5ml y aguja hipodérmica de 20G. Para los grupos Enro-C<sub>5</sub> y Enro-C<sub>10</sub> se utilizó enrofloxacin dihidrato clorhidrato de patente de la UNAM (10%) a la misma dosis y vía de administración que los dos grupos anteriores.

El tratamiento para los Enro<sub>agua</sub> y Enro-C<sub>agua</sub> se administró en el agua de bebida mediante contenedores cilíndricos con chupones con un flujo de agua de 2 a 4 litros por minuto. Se administró a una razón de 100 mg de enrofloxacin por cada litro de agua, preparando un total de 100L por grupo, considerando que el consumo de agua en esta etapa de producción es de 2 a 4 litros por día por cerdo estos contaban con el agua suficiente para cumplir con su requerimiento diario, en ambos casos el preparado se preparó de esta manera para conseguir una dosis de 10 mg/kg de acuerdo con el consumo de agua en esta etapa productiva.

**PRODUCTO.** La Enro-base, Baytril inyectable 10%® presentación de 250ml. La enro-C que se realizó en el laboratorio de investigación 2317 de la FMVZ-UNAM de acuerdo con lo establecido en la patente No.MX/a/2013/014603.

**TOMA DE MUESTRAS.** Se tomaron muestras de sangre de 4 cerdos por grupo en cada tiempo de muestreo. En cada muestra se obtuvieron de 3ml a 4ml de sangre mediante punción yugular con aguja vacutainer de 21G X 38 mm porta agujas y tubo de vacío sin anticoagulante (tubo rojo). En los grupos 1 y 2 se realizó el muestreo a los 45min, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h y 8h después de administrado el fármaco. En los grupos 3 y 4 la toma de muestras se realizó a las 2h, 4h y 6h de iniciado el tratamiento además de observar el consumo de agua durante las 12 horas que duró el tratamiento.

Cada muestra se identificó con el grupo, número de cerdo y tiempo de muestreo. La sangre se centrifugó inmediatamente a 3500rpm durante 15 min con la finalidad de obtener el suero sanguíneo, el cual se recolectó con pipetas Pasteur y se depositó en tubos de criopreservación identificados con la misma leyenda y congelados a -196 °C hasta su análisis.

**PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.** El suero se evaluó por el método de Bennett (21) un estudio cualitativo/cuantitativo basado en una prueba de actividad/concentración empleando como microorganismo susceptible a *E. coli* ATCC 10536.

**DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA.** El agar utilizado fue BD Mueller Hinton II agar, preparado siguiendo las indicaciones que marca el producto.

- Cultivo bacteriano: cepa bacteriana *E. coli* ATCC 10536
- Estándar bacteriano: En un tubo de tapón de rosca se colocaron 5 ml de agua destilada y una asada del cultivo bacteriano joven (resembrado 24 horas antes) de *E. coli* ATCC 10536.

Por medio de los estándares de McFarland se realizaron los ajustes necesarios a la dilución para obtener una concentración al 0.5 de McFarland.

La turbidez al 0.5 de McFarland se obtuvo por medio de un espectrofotómetro a una transmitancia del 60-65%, la cual corresponde a una concentración bacteriana de  $1 \times 10^{14}$ .

- Preparación de las placas:

En un refractario estéril tipo Pirex® de 21 x 20 cm, se colocaron 300 ml de agar y se dejó enfriar durante 10 minutos. Posteriormente se colocaron 400 µl de la suspensión bacteriana y por medio de un hisopo estéril se distribuyó homogéneamente sobre todo el agar.

- Preparación de las diluciones:

Se pesaron 20 g de estándar de enrofloxacin (98% de pureza), se colocó en un matraz y se aforó a 100 ml con agua desionizada. Se marcaron 10 tubos de 5 ml del 1 al 10 y uno de 15 mililitros con el número 0, en el matraz numerado con el 0

se colocaron 9 ml de agua desionizada y en los demás tubos se colocó 1 ml en cada uno de ellos.

Del matraz se tomó 1 ml y se agregó en el tubo 0, se homogenizó y de este se tomó 1 ml y se agregó al tubo 1 se homogenizó, se tomó 1 ml y se agregó al tubo 2 y así se continuó hasta completar los 10 tubos, teniendo finalmente las siguientes diluciones (Cuadro 1).

**Cuadro 1.**

Concentraciones obtenidas a partir de la dilución de enrofloxacin en agua desionizada

No	Concentración ( $\mu\text{g/ml}$ )
Matraz	200
Tubo 0	20
Tubo 1	10
Tubo 2	5
Tubo 3	2.5
Tubo 4	1.25
Tubo 5	0.625
Tubo 6	0.3125

- Preparación de diluciones y lectura de las placas:

Una vez preparada la placa y con ayuda de un sacabocados se realizó a lo largo del refractario dos hileras de 10 pozos cada una.

Colocando en cada pozo 100  $\mu$ l de cada una de las diluciones, realizándose por duplicado. Se elaboraron 5 placas en el mismo día con la misma metodología con la finalidad de tener un total de 10 lecturas, se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Transcurridas las 24 horas se realizaron las lecturas de milímetros de halo de inhibición por pozo y por placa.

- Procesamiento de las lecturas de los halos de inhibición:

Se obtuvieron medias y desviaciones estándar del diámetro de halo de inhibición de cada una de las diluciones, a partir de los cuales y con ayuda del programa Microcal Origin se obtuvieron las gráficas de milímetros de halo de inhibición vs concentración.

Procesamiento farmacocinético y análisis estadístico de datos.

Se realizó mediante un modelo monocompartamental utilizando el programa Pk Analyst que tiene una capacidad de análisis estadístico indiferencial y descriptivo.

Con los datos que se obtuvieron mediante el análisis monocompartamental de las concentraciones vs tiempo se determinaron las variables farmacocinéticas necesarias para la comprensión del comportamiento del fármaco.

Las variables que se determinaron son:

- AUC 24h ( $\mu\text{g}/\text{mL}/\text{h}$ ): área bajo la curva.
- $T_{1/2\beta}$  (h): vida media de la fase de post-distribución.
- $C_{\text{max}}$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ): concentración plasmática máxima.
- $T_{\text{max}}$  (h): tiempo para lograr la  $C_{\text{max}}$ .

Con ayuda de JMP 5.0.1 se realizó el análisis estadístico.



## RESULTADOS

Con el promedio de las concentraciones de enrofloxacin lograda por la administraci3n IM de Enrob<sub>5</sub> y Enrob<sub>10</sub> y Enro-C<sub>5</sub> y Enro-C<sub>10</sub> se realiz3 una comparaci3n entre los grupos a los que se les administraron las mismas dosis mostrando diferencias estadisticamente significativas de las concentraciones de Enro-C (10 mg/kg y 5 mg/kg) en comparaci3n con Enro-base (10 mg/kg y 5 mg/kg) despu3s de dos horas de administrar los f3rmacos y hasta finalizar el estudio (Cuadros 2 y 3) (Figuras 2 y 3).

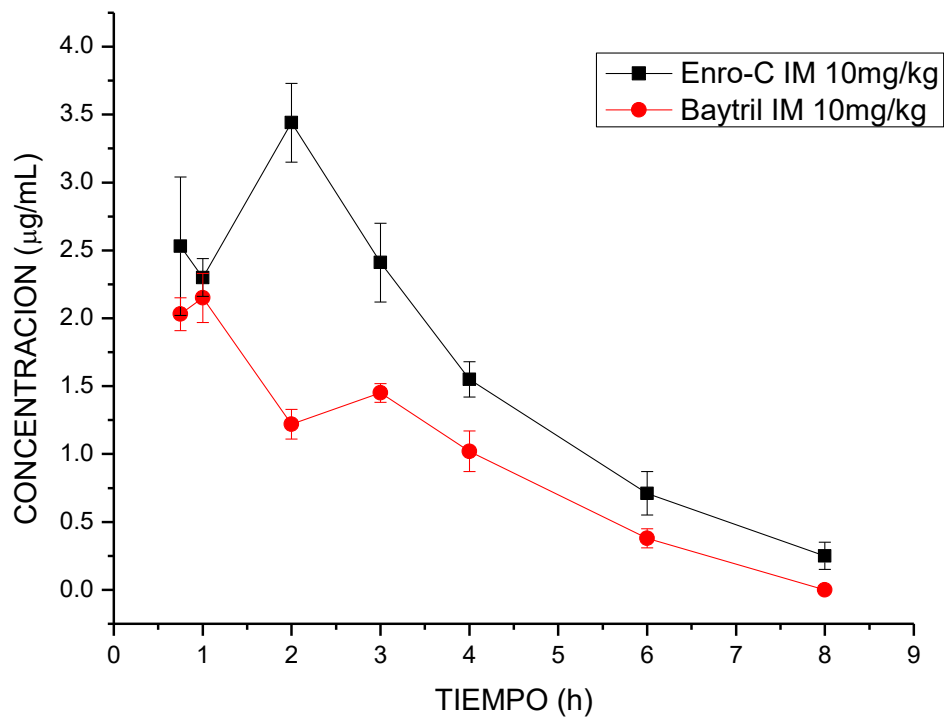
### Cuadro 2.

Promedio  $\pm$  desviaci3n est3andar ( $\pm$ de) de las concentraciones s3ricas en los diferentes tiempos de muestreo despu3s de la administraci3n im de los tratamientos a dosis 3nica de 10 mg/kg.

Tiempo (h)	Enro-C <sub>10</sub>		Enro <sub>b10</sub>	
	Promedio	DE $\pm$	Promedio	DE $\pm$
0.75	2.53 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.51	2.03 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.12
1	2.30 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.14	2.15 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.18
2	3.44 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.29	1.22 <sup>b</sup>	$\pm$ 0.11
3	2.41 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.29	1.45 <sup>b</sup>	$\pm$ 0.07
4	1.55 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.13	1.02 <sup>b</sup>	$\pm$ 0.15
6	0.71 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.16	0.38 <sup>b</sup>	$\pm$ 0.07
8	0.25 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.10	0.00 <sup>b</sup>	$\pm$ 0.00

<sup>aa</sup> Literales iguales: indican que no hay diferencia estadística significativa.

<sup>ab</sup> Literales diferentes: indican diferencia estadísticamente significativa.



**Figura 2.** Media  $\pm$  1DE de las concentraciones de enrofloxacin en suero de cerdos a partir de inyecciones IM de dos derivados: enrofloxacin base (Baytril®) a dosis de 10 mg/kg y enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O (enro-C) a dosis de 10 mg/kg. Escala aritmética en ambos ejes.

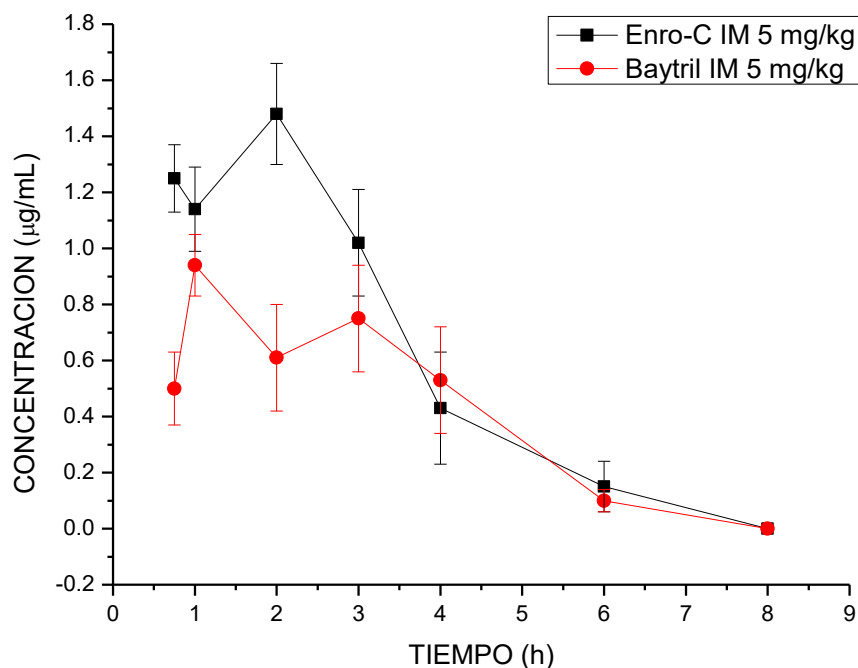
**Cuadro 3.**

Promedio  $\pm$  desviación estándar ( $\pm$ de) de las concentraciones séricas en los diferentes tiempos de muestreo después de la administración im de los tratamientos a dosis única de 5 mg/kg.

Tiempo (h)	Enro-C <sub>5</sub>		Enro <sub>b5</sub>	
	Promedio	DE $\pm$	Promedio	DE $\pm$
<b>0.75</b>	1.25 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.12	0.50 <sup>b</sup>	$\pm$ 0.13
<b>1</b>	1.14 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.15	0.94 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.11
<b>2</b>	1.48 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.18	0.61 <sup>b</sup>	$\pm$ 0.19
<b>3</b>	1.02 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.19	0.75 <sup>b</sup>	$\pm$ 0.19
<b>4</b>	0.43 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.20	0.53 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.19
<b>6</b>	0.15 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.09	0.10 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.04
<b>8</b>	0.00 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.00	0.00 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.00

<sup>aa</sup> Literales iguales: indican que no hay diferencia estadística significativa.

<sup>ab</sup> Literales diferentes: indican diferencia estadísticamente significativa.



**Figura 3.** Media  $\pm$  1DE de las concentraciones de enrofloxacin en suero de cerdos a partir de inyecciones IM de 5 mg/kg de dos derivados: enrofloxacin base (Baytril®) y enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O (enro-C). Escala aritmética en ambos ejes.

En las variables farmacocinéticas para Enro-C y Enro-base vía IM se puede observar una diferencia en el AUC y la  $C_{max}$  logradas por Enro-C en comparación con las alcanzadas por Enro-base, siendo mayor en la Enro-C a dosis de 10mg/kg, se observa también que la Enro-C a 10mg/kg tarda más tiempo en alcanzar la  $C_{max}$  y tiene  $T_{1/2\beta}$  más corta que las obtenidas por Enro-base a 10 mg/kg (Cuadro 4 y Figura 2).

#### Cuadro 4.

Promedio de los parámetros farmacocinéticos clave, obtenidos a partir de las concentraciones séricas de enro-c y enrofloxacin de referencia en cerdos que recibieron ambos fármacos a dosis de 5 o 10 mg/kg, vías im u oral.

Grupos	C <sub>max</sub> (µg/mL)	T <sub>max</sub> (h)	AUC <sub>0-∞</sub> (µg/mL/h)	T <sub>1/2β</sub> (h)
<b>Enro-C<sub>10</sub></b>	3.06 <sup>a</sup>	1.63 <sup>a</sup>	13.52 <sup>a</sup>	1.16 <sup>a</sup>
<b>Enro<sub>b10</sub></b>	2.18 <sup>b</sup>	0.65 <sup>b</sup>	8.73 <sup>b</sup>	2.29 <sup>b</sup>
<b>Enro-C<sub>5</sub></b>	1.40 <sup>c</sup>	1.37 <sup>a</sup>	5.32 <sup>c</sup>	1.02 <sup>a</sup>
<b>Enro<sub>b5</sub></b>	0.87 <sup>d</sup>	1.51 <sup>a</sup>	3.66 <sup>d</sup>	1.35 <sup>a</sup>
<b>Enro-C<sub>agua</sub></b>	0.15 <sup>e</sup>	3.12 <sup>c</sup>	1.23 <sup>e</sup>	2.14 <sup>b</sup>
<b>Enro<sub>agua</sub></b>	0.07 <sup>f</sup>	3.34 <sup>c</sup>	0.59 <sup>f</sup>	2.31 <sup>b</sup>

C<sub>max</sub> = Concentración plasmática máxima; T<sub>max</sub> = Tiempo en el que se logra la C<sub>max</sub>; AUC= Área bajo la curva; T<sub>1/2β</sub>= Vida media de la fase post-distribución.

Diferentes literales significan diferencias estadísticas entre grupos

En los grupos tratados mediante el agua de bebida hubo una reducción en el consumo tras la administración de ambos tratamientos, para el caso de la Enro-C el consumo total se redujo un 60% y para la Enro-base la reducción fue del 75% por lo cual las concentraciones logradas se encuentran muy por debajo de lo esperado para cumplir con los parámetros farmacocinéticos (Figura 3) (Cuadro 4 y 5)

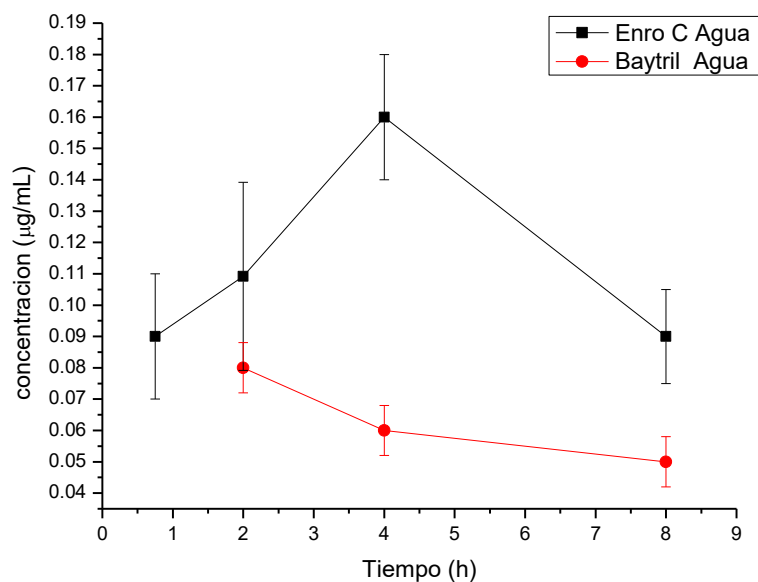
**Cuadro 5.**

Promedio  $\pm$  desviación estándar ( $\pm$ de) de las concentraciones séricas en los diferentes tiempos de muestreo después de la administración en el agua de bebida de los preparados enro-c o enrofloxacin de referencia, a dosis de 10 mg/kg calculando la dosis teórica con base en el consumo de agua esperado (100 ml/kg/día) y a una concentración del 0.1% (10 g/100 l de agua).

Tiempo (h)	Enro-C <sub>agua</sub>		Enro <sub>agua</sub>	
	Promedio	DE $\pm$	Promedio	DE $\pm$
<b>0.75</b>	0.09 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.1	0.00 <sup>b</sup>	$\pm$ 0.1
<b>2</b>	0.11 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.12	0.06 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.1
<b>4</b>	0.16 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.34	0.08 <sup>b</sup>	$\pm$ 0.1
<b>8</b>	0.09 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.56	0.05 <sup>b</sup>	$\pm$ 0.1

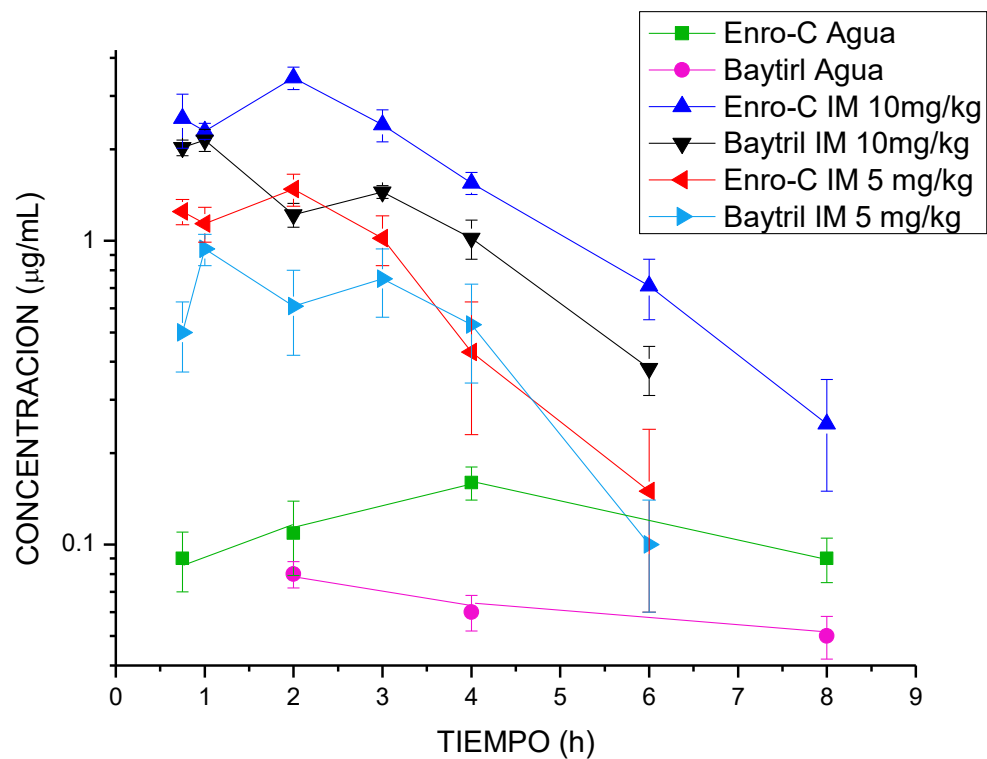
<sup>aa</sup> Literales iguales: indican que no hay diferencia estadística significativa.

<sup>ab</sup> Literales diferentes: indican diferencia estadísticamente significativa.



**Figura 4.** Media  $\pm$  1DE de las concentraciones de enrofloxacin en suero de cerdos a partir de su administraci3n en el agua de bebida a dosis de 10 mg/kg de dos derivados: enrofloxacin base (Baytril®) y enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O (enro-C). Escala aritm3tica en ambos ejes.

Al realizar una comparaci3n grafica de las composiciones administradas v3a IM y PO es evidente una menor concentraci3n s3rica en aquellas que se administraron mediante el agua de bebida, adem3s de que la enro-C a 10 mg/Kg muestra las concentraciones m3s altas de entre todas las v3as comparadas (Figura 5)



**Figura 5.** Media  $\pm$  1DE de las concentraciones de enrofloxacin en suero de cerdos a partir de inyecciones IM de dos derivados: enrofloxacin base (Baytril®) a dosis de 10 mg/kg y 5 mg/kg, enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O (Enro-C) a dosis de 5 mg/kg y 10 mg/kg y en agua de bebida a 10 mg/kg: enrofloxacin base y enro-C. Escala Log<sub>10</sub>/aritmética en Y y X, respectivamente.



## DISCUSIÓN

En este estudio se evaluaron las concentraciones de enrofloxacin en suero porcino a partir de la administración de enro-C y enrofloxacin base del preparado referente (Baytril®, MSD), al administrarse por vía IM y a través del agua de bebida y con la finalidad de comparar las concentraciones séricas logradas y determinar las relaciones PK/PD, así como determinar si cumplieron con los parámetros farmacocinéticos para una máxima eficacia terapéutica en cerdos.

Los resultados obtenidos tras la administración de enrofloxacin vía IM a dosis de 10 mg/kg indican que el grupo tratado con enro-C logró mayores concentraciones séricas mostrando una  $C_{max}$  de 3.05  $\mu\text{g/mL}$  y un AUC de 13.53  $\mu\text{g/mL/h}$ , en comparación a las alcanzadas por Enro-base de referencia, en las que se obtuvo una  $C_{max}$  y un AUC de 2.17  $\mu\text{g/mL}$  y 8.73  $\mu\text{g/mL/h}$ , respectivamente. Dado que, la eficacia clínica está ligada a las relaciones farmacocinéticas ya mencionadas, esto es que la  $C_{max}$  este lo más elevada posible pues así se podrá lograr con mayor certeza que se supere en 10 a 12 veces el valor de CMI del patógeno que del momento clínico, lo cual es un requisito para la relación PK/PD de enrofloxacin y se expresa como  $C_{max}/CMI \geq 10-12$  (22).

Si se considera la CMI para enrofloxacin de un microorganismo sensible como *E. coli* con 0.06  $\mu\text{g/ml}$  (12) se requiere entonces una  $C_{max}$  de 0.6  $\mu\text{g/ml}$  a 0.72  $\mu\text{g/ml}$  para tener una eficacia terapéutica óptima. De acuerdo con los resultados de este estudio ambos compuestos podrían asegurar una eficacia terapéutica adecuada. En cambio, si consideramos un organismo menos sensible como *A. pleuroneumoniae*

cuya CMI es de 0.25 µg/ml (12), la  $C_{max}$  necesaria es de 2.5 µg/ml a 3.0 µg/ml y la enrofloxacin de referencia no aseguraría una eficacia terapéutica óptima para este microorganismo y tampoco se obtendrían concentraciones terapéuticas si se administra cualquiera de los preparados de este ensayo a dosis de 5 mg/kg ya que sus  $C_{max}$  se encuentran por debajo de la relación  $C_{max}/CMI \geq 10-12$  comentada.

Un punto a destacar es que los resultados mostraron que los fármacos administrados en agua de bebida dan lugar a un consumo de agua muy reducido e incluso a un rechazo total y no se puede lograr un valor de  $C_{max}$  adecuado con lo que la eficacia terapéutica se vería comprometida. Es entonces que se postula aquí como irracional o poco útil la administración de enrofloxacinas por esta vía (enro-C o enrofloxacin de referencia). Es necesario señalar que tampoco se logran concentraciones adecuadas de AUC como para satisfacer el criterio PK/PD de  $AUC/CMI \geq 120$ .

Las consideraciones anteriores resultan relevantes si se pondera que existen preparados de enrofloxacin para avicultura para administrar junto con el alimento y para aplicar vía agua de bebida y que esto pudiera extenderse a la industria porcina. Es claro que estas acciones resultarían en una dosificación poco adecuada por la baja en el consumo que se presenta como se observó en este estudio. A su vez, esta situación fomentaría no solo la baja respuesta clínica, sino que favorecería la generación de resistencias bacterianas (12). Las concentraciones séricas que se lograron tras la aplicación de las enrofloxacin por agua de bebida *ad libitum* lograron unas concentraciones séricas tan bajas que solo son compatibles con la eliminación de bacterias muy susceptibles, dejando que se repliquen bacterias que

por mutaciones son menos sensibles al fármaco administrado (23). A pesar del bajo desarrollo de resistencias para enrofloxacin (24), no debe descartarse esta problemática que genera el uso continuo de forma inadecuada, lo cual puede ser una costumbre muy arraigada en la industria porcina, sobre todo en grandes corporativos en los que la inyección diaria de enrofloxacin representa un reto laboral muy grande y costoso, amén de las lesiones que induce el preparado referente con su pH de 10.5 (7)<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Comunicación personal Dr. Héctor Sumano López. Profesor – Investigador del Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Agosto, 2022.

## CONCLUSIONES

El preparado de enro-C al 10% diluido en agua inyectable y aplicado por vía IM muestra resultados farmacocinéticos indudablemente mayores a los que presenta la enrofloxacina-base de referencia y por esta misma vía, lo que sugiere una mayor eficacia terapéutica contra microorganismos susceptibles y medianamente susceptibles a dosis de 10 mg/kg y por vía IM y mejores relaciones PK/PD. En relación con los preparados administrados en el agua de bebida, tanto la enro-C como la enrofloxacina de referencia, no resultaron viables para dosificar adecuadamente a esta especie dado el rechazo de los cerdos al agua medicada y por ello se hace énfasis en que debe evitarse esta vía para prolongar la vida útil de este antimicrobiano.

Una conclusión plausible de este estudio es que la enro-C administrada por vía IM a dosis de 10 mg/kg puede convertirse en una buena opción terapéutica dadas los valores de C<sub>max</sub> y AUC que logra en suero y por ende por las relaciones PK/PD más favorables. Se postula que con el marco farmacocinético descrito se puede inhibir a una notable variedad de microorganismos patógenos del aparato respiratorio y digestivo de los cerdos. Sin embargo, dadas las diferencias farmacocinéticas evidenciadas en este estudio, será necesario reestimar el tiempo de retiro de rastro en esta especie y será pertinente realizar pruebas clínicas para valorar la eficacia comparativa de la enro-C y la enrofloxacina de referencia contra microorganismos comunes de tracto respiratorio y digestivo en la industria porcina.



## REFERENCIAS

1. Martinez M, McDermott P, Walker R. Pharmacology of the fluoroquinolones: A perspective for the use in domestic animals. *Vet J.* 2006;172(1):10–28.
2. Wang J, Hao H, Huang L, Liu Z, Chen D, Yuan Z. Pharmacokinetic and pharmacodynamic integration and modeling of enrofloxacin in swine for *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 2016;7(36):1–9.
3. Escribano E, Calpena AC, Garrigues TM, Freixas J, Domenech J, Moreno J. Structure-absorption relationships of a series of 6-fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41(9):1996–2000.
4. Nielsen P, Gyrd-Hansen N. Bioavailability of Enrofloxacin after Oral Administration to Fed and Fasted Pigs. *J Vet Pharmacol Toxicology.* 1997;80(5):246–50.
5. Gutierrez L, Miranda-Calderon JE, Garcia-Gutierrez P, Sumano H. Physicochemical characterization and pharmacokinetics in broiler chickens of a new recrystallized enrofloxacin hydrochloride dihydrate. *J Vet Pharmacol Ther.* 2015;38(2):183–9.
6. Brown SA. Fluoroquinolones in animal health. *J Vet Pharmacol Ther.* 1996;19(1):1–14.
7. Sumano H, Ocampo L. Compositional Analysis Surveillance of Eleven Brands of Enrofloxacin Including Baytril® for Veterinary Use. *J Vet Med Ser A.* 1995;42(10):669–73.

8. Howard JT, Baynes RE, Brooks JD, Yeatts JL, Bellis B, Ashwell MS, et al. The effect of breed and sex on sulfamethazine, enrofloxacin, fenbendazole and flunixin meglumine pharmacokinetic parameters in swine. *J Vet Pharmacol Ther.* 2014;37(6):531–41.
9. Römer A, Scherz G, Reupke S, Meißner J, Wallmann J, Kietzmann M, et al. Effects of intramuscularly administered enrofloxacin on the susceptibility of commensal intestinal *Escherichia coli* in pigs (*sus scrofa domestica*). *BMC Vet Res.* 2017;13(1):1–11.
10. Messenger KM, Papich MG, Blikslager AT. Distribution of enrofloxacin and its active metabolite, using an in vivo ultrafiltration sampling technique after the injection of enrofloxacin to pigs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2012;35(5):452–9.
11. McKellar Q, Gibson I, Monteiro A, Bregante M. Pharmacokinetics of enrofloxacin and danofloxacin in plasma, inflammatory exudate, and bronchial secretions of calves following subcutaneous administration. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43(8):1988–92.
12. Grandemange E, Perrin PA, Cvejic D, Haas M, Rowan T, Hellmann K. Randomised controlled field study to evaluate the efficacy and clinical safety of a single 8 mg/kg injectable dose of marbofloxacin compared with one or two doses of 7.5 mg/kg injectable enrofloxacin for the treatment of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in. *Porc Heal Manag.* 2017;3(1):1–12.
13. Mendoza J, Gutierrez L, Gutiérrez J, Bustos FA, Sumano H. Pharmacokinetics of enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O (ENRO-C), PK/PD, and Monte Carlo modeling vs.

- Leptospira spp. in cows. J Vet Pharmacol Ther. 2019;42(3):300–8.
14. Miranda-Calderón JE, Gutiérrez L, Flores-Alamo M, García-Gutiérrez P, Sumano H. Enrofloxacin hydrochloride dihydrate. Vol. 70, Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online. 2014. p. o468–9.
  15. Martínez-Cortés I, Gutierrez L, Tapia G, Ocampo L, Sumano H. Serum and milk concentrations of enrofloxacin in cows intramammarily treated with a new enrofloxacin-polymorph. Med Weter. 2016;72(11):686–92.
  16. Viveros M, Lopez-Ordaz R, Gutiérrez L, Miranda-Calderón JE, Sumano H. Efficacy assessment of an intramammary treatment with a new recrystallized enrofloxacin vs ceftiofur and parenteral enrofloxacin in dairy cows with nonsevere clinical mastitis. J Vet Pharmacol Ther. 2018;41(1):e1–9.
  17. Carrascosa A, Gutierrez L, De la Peña A, Candanos IE, Tapia G, Sumano H. Efficacy of a new recrystallized enrofloxacin hydrochloride-dihydrate against leptospirosis in a hamster model. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(11).
  18. Sumano H, Ocampo L, Tapia G, Mendoza C de J, Gutierrez L. Pharmacokinetics of enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O (Enro-C) in dogs and pharmacokinetic/pharmacodynamic Monte Carlo simulations against Leptospira spp. J Vet Sci. 2018;19(5):600–7.
  19. Gutierrez L, Mendoza J, Rangel AB, Tapia G, Bernad MJ, Sumano H. Outpatient Clinical Trial in Dogs With Leptospirosis Treated With Enrofloxacin Hydrochloride-Dihydrate (ENRO-C). Front Vet Sci. 2019;6(360):1–9.
  20. Chassan M, Anne H, Concordet D. What Matters in Piglets ' Exposure to



- Antibiotics Administered through Drinking Water ? Antibiotics. 2021;10(9).
21. Bennett J V., Brodie JL, Benner EJ, Kirby WM. Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. Appl Microbiol. 1966;14(2):170–7.
  22. Va E. Efficacy and pharmacokinetics of enrofloxacin and flunixin meglumine for treatment of cows with experimentally induced Escherichia coli mastitis. 2002;251–8.
  23. Republic C. Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and mutant prevention concentration (MPC) of selected antimicrobials in bovine and swine. 2015;(Mic):83–9.
  24. Gebru Awji E, Tassew DD, Lee JS, Lee SJ, Choi MJ, Reza MA, et al. Comparative mutant prevention concentration and mechanism of resistance to veterinary fluoroquinolones in Staphylococcus pseudintermedius. Vet Dermatol. 2012;23(4).

