



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL

EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LA
PALATABILIDAD EN EL CONSUMO DE AGUA MEDICADA
CON TRES PREPARADOS DE FLORFENICOL EN CERDOS
DESTETADOS Y SUS REPERCUSIONES TERAPÉUTICAS

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Bárbara Elías Alejandri

TUTOR

Dr. Luis Ocampo Camberos

COMITÉ TUTORAL

Marco Antonio Herradora Lozano

Adriana Ganem Rondero

MÉXICO D.F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

D e d i c a t o r i a

A Karol y a Brisa, mis hijos, por la confianza, la espera, y el amor incondicional.

A mi Mamá, por su invaluable apoyo, ayuda y amor en su idea y su sentir.

A mi Papá, por la oportunidad de existir.

A mi Má Tellita y mi Pá Armando, por su adopción y enseñanzas acerca de lo grandioso y maravilloso que es el ser humano en la capacidad para amar a quien no es de tu sangre.

A Paty, mi hermana por decisión, gracias por la emoción, desveladas y el reconocimiento durante esta jornada en mucho desconocida para ti.

A Herly, mi mejor amiga, por tu ayuda, preocupación, cariño y compañía a lo largo de mi vida.

Al Pbro. Martín Mena Saucillo, por tu confianza amistad, cariño y por apoyar mi carrera académica desde la licenciatura.

Al Ing. Gabriel Elías Castro, por ser un ejemplo y motivación para mí desde que inicié mi carrera universitaria, por tu asesoría, cenas y cariño.

A Kary, por permitirme ser tu primera tutorada, por tú disposición e invaluable ayuda para la realización de esta tesis (sabes que sin ti quizá no lo hubiese logrado a tiempo).

A la Dra. Silvia Buntinx, por la revisión y reflexión acerca de lo que es y lo que debe ser.

Al Ing. José Luis Pablos Hach, por su asesoría y calidez como ser humano.

A la Dra. Laura Romero, por su amistad, confianza y cariño.

Al Dr. Raúl Vargas, por tu amistad, consejo, confianza y cariño.

A la Dra. María Elena Trujillo, por su cariño, confianza y consejos.

A mis perras (hijas) Dorotea y Patina, donde quiera que se encuentren, por su amor, lealtad y compañía.

A Martín, por ser mi cómplice y compañero al final de la jornada.

Agradecimientos

Porque uno puede devolver un préstamo de oro, pero está en deuda de por vida con aquellos que son amables (Proverbio).

A Dios por la vida y por permitirme ser, hacer, estar y seguir.

A Lau, mi hermana, por el amor a mis hijos en el momento preciso.

A Andrés, por no soltar mi mano y permitirme redescubrir en mí algo más que una madre y estudiante.

A la Dra. Rivera, por su amistad y apoyo incondicional.

A Rafa, Manuelito, especialmente a Jeros, por su ayuda, amistad, cariño y apoyo.

A Lupita, por el alojamiento previo a los días de examen.

A la Dra. Sara Caballero Chacón, por su amistad, apoyo y cariño.

A la Dra. Graciela Tapia, por su ayuda.

A la Dra. Susy Arellano, por sus palabras de aliento y su calidad humana.

Al Dr. Luis Ocampo Camberos, por creer, confiar y darme la oportunidad para seguir adelante en uno de los momentos más complicados de mi vida.

A la Dra. Lilia Gutiérrez, por su apoyo en el momento requerido.

A la Sra. Felisa González, por su ayuda y apoyo.

Al Dr. Marco Antonio Herradora Lozano, por su paciencia y comentarios.

A la Dra. Adriana Ganem Rondero, por su confianza y apoyo.

Al Dr. Sumano, por su gran enseñanza.

A todos aquellos seres humanos que tuvieron para mí la palabra, actitud, gesto, y energía positiva en el momento preciso y con la intensidad precisa, interactuando conmigo desde sus trincheras para que esta etapa llegara a su fin.

La piedad y la lealtad no te abandonen,

átalas a tu cuello

escríbelas en la tablilla de tu corazón.

Así hallarás favor y buena acogida

a los ojos de Dios y de los hombres.

Confía en Dios de todo corazón

y no te apoyes en tu propia inteligencia.

Reconócele en todos tus caminos

y él enderezará tus sendas (Proverbios 3, 3-6)

Contenido

1.	Introducción.....	1
1.1.	Consumo de agua	2
1.2.	Terapéutica.....	6
1.3.	Dosificación de antibacterianos en el agua de bebida.....	6
1.4.	Resistencia bacteriana	7
1.5.	Origen de la resistencia a los fármacos	8
1.6.	Palatabilidad.....	11
1.7.	Olfato.....	12
1.8.	Antecedentes del florfenicol.....	12
1.9.	Características químicas del florfenicol	13
1.10.	Mecanismo de acción antibacteriana y espectro	14
1.11.	Farmacocinética	15
1.12.	Tiempo de retiro y residuos.....	16
1.13.	Clasificación de los antibióticos dependientes de la concentración/tiempo ..	17
1.14.	Usos clínicos en cerdos	17
2.	Justificación	19
3.	Hipótesis	21
4.	Objetivo General.....	22

5.	Objetivos específicos	23
6.	Material y Métodos.....	24
6.1.	Etapa 1. Adaptación y cuantificación del consumo basal	25
6.2.	Etapa 2. Criterios para la dosificación	25
6.3.	Etapa 3. Cuantificación del consumo de agua medicada	27
	Etapa 4. Obtención de muestras de sangrel.....	29
6.4.	Etapa 5. Concentración sérica de florfenicol	30
7.	Resultados.....	34
7.1.	Etapa 1. Adaptación y cuantificación del consumo basal	34
7.2.	Etapa 3. Cuantificación del consumo de agua medicada	34
7.3.	Etapa 4 y 5. Obtención de muestras de sangre y determinación de concentración sérica de florfenicol	39
8.	Discusión	40
9.	Conclusiones.....	45
10.	Recomendaciones	46
11.	Literatura citada.....	47

Lista de cuadros

Cuadro 1. Porcentaje (%) de agua contenida en músculo y grasa del cerdo	2
Cuadro 2. Factores que afectan el consumo ad libitum de agua en cerdos destetados	4
Cuadro 3. Requerimientos mínimos de agua para cada fase de producción	5
Cuadro 4. Diferencia en la cantidad y tipo de papilas gustativas presentes en humanos y cerdos	11
Cuadro 5. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de florfenicol para ciertos patógenos que afectan vías respiratorias en cerdos	15
Cuadro 6. Parámetros farmacocinéticos encontrados por HPLC en plasma por varios autores a partir de la dosificación de florfenicol vía oral en bolo en cerdos sanos	16
Cuadro 7. Límites máximos de residuos permitidos del cerdo en productos para consumo humano (EMEA)	16
Cuadro 8. Presentación comercial del florfenicol, vía de administración y dosis recomendadas	18
Cuadro 9. Dosis de florfenicol por tratamiento	26
Cuadro 10. Cuadro comparativo entre dosis de florfenicol (mg/Kg	27
Cuadro 11. Diluciones estándar del florfenicol para la preparación de las placas	32
Cuadro 12. Promedio (Desviación estándar) para consumos de agua (mL/Kg/h) por día, por tratamiento	34
Cuadro 13. Estadística descriptiva para aumento de peso por corral, sin y con medicina	35
Cuadro 15. R ² entre consumo de agua y temperatura ambiente	42

Lista de figuras

Figura 1. Fórmula química del florfenicol	14
Figura 2. Gráfica con estadística descriptiva para consumo de agua por corral con y sin florfenicol	35
Figura 3. Regresión para A1 Colmax®	36
Figura 4. Regresión para A1 Colmax® M	36
Figura 5. Regresión para A2 Colmax®	36
Figura 6. Regresión para A2 Colmax® M	36
Figura 7. Regresión para B1 Nuflor®	37
Figura 8. Regresión para B1 Nuflor® M	37
Figura 9. Regresión para B2 Nuflor®	37
Figura 10. Regresión para B2 Nuflor® M	37
Figura 11. Regresión para C1 Nutricol®	38
Figura 12. Regresión para C1 Nutricol® M	38
Figura 13. Regresión para C2 Nutricol®	38
Figura 14. Regresión para C2 Nutricol® M	38
Figura 15. Regresión lineal simple entre consumo de agua y aumento de peso por día, para todos los días de tratamiento	39

Resumen

La administración de subdosis en las granjas porcinas contribuye a la formación de resistencia bacteriana contra antibacterianos. Se comparó la diferencia en la palatabilidad de florfenicol a dos diferentes dosis, utilizando varios tipos comerciales de florfenicol. Se midió el consumo de agua medicada, y la dosificación real no detectada a partir del plasma de los cerdos por medio del estudio microbiológico de Bennett. El consumo promedio de agua antes del tratamiento fue de 5.5 – 5.7 L/día. La temperatura tuvo una relación lineal positiva con el comportamiento del consumo de agua en todos los grupos durante la etapa de medición basal, dicha relación se perdió al comenzar la dosificación con florfenicol en el día 11. Se observó respuesta al sabor, analizando el consumo de agua, al agregar florfenicol. El cambio menos notable correspondió al tratamiento A1 Colmax®, mientras que para el tratamiento B2 Nufloor® fue menos notable la disminución en el consumo. Los tratamientos A1, C1 y C2 no presentaron diferencias entre consumo de agua sin medicación y medicada. La temperatura ambiente influyó el consumo de agua en los tratamientos A1 y C2. La relación entre temperatura ambiente y consumo de agua fue negativa en A2 medicado, con una R^2 mayor que en A2 sin medicar. En B1 la R^2 fue pobre, y en B2 la relación negativa fue más marcada. El grupo B2 sin medicar presentó mejor relación entre temperatura ambiente y consumo de agua. En el análisis de regresión lineal simple entre consumo de agua y temperatura ambiental para cada tratamiento sin mediación se observó que en todos los casos la correlación lineal fue positiva, cuando se inició con la medicación en el agua, dos de los tratamientos, C2 Nutricol® y A2 Colmax®, presentaron correlación lineal negativa de 37%. Las presentaciones de florfenicol utilizadas afectaron negativamente la palatabilidad del agua, siendo los productos menos palatables A y C, especialmente cuando la dosis se triplicó.

El efecto en la palatabilidad condujo a una disminución en el consumo de agua por parte de los cerdos, lo cual ocasionó una subdosificación del florfenicol.

Abstract

Low-dose antibacterial agents given in pig farms contribute on formation of bacterial resistance. We compared palatability of different brands of florfenicol at two doses and determined the influence of taste on the consumption of medicated water and try to detect florfenicol metabolites on plasma of treated pigs using Bennett's microbiology. Before start treatment, average water consumption was 5.5 - 5.7 L/day. Rise on temperature present positive lineal correlation on water intake in all treatments during measure of basal intake stage, but this relationship was lost when water was added with florfenicol. It was observed a decrease on water intake when florfenicol was added. The less noticeable change was for A1Colmax ® treatment, while treatment B2 Nuflor® almost not report reduces on consumption. Treatments A1, C1 and C2 did not present intake differences between non medicated water and medicated one. Temperature influences water intake on treatments A1 and C2. Relationship between temperature and water intake was negative in medicated A2, with a greater R^2 than A2 without florfenicol. R^2 was poor for B1, and for B2 negative relationship was more obvious. Not medicated B2 treatment showed better temperature/water consumption relationship. A simple linear regression analysis using water consumption and environmental temperature for each not medicated treatment present, in all cases, a positive linear correlation; but when medication started two of the treatments, C2 Nutricol ® and A2 Colmax ®, showed negative linear correlation of 37%. Florfenicol brands used affected unfavorably palatability of water, being it less palatable, especially on A and C treatments when dose was triplicate.

Effect on the palatability lead on pigs a lessen water intake, which resulted on florfenicol low-dosage.

1. Introducción

La producción porcina en países industrializados y del tercer mundo ha cambiado en los últimos años; esto ha generado que grandes grupos de animales se alojen bajo condiciones intensivas, con poblaciones de cerdos muy densas, lo que aumenta la incidencia y facilita el contagio de trastornos respiratorios y enfermedades sistémicas de transmisión aérea dentro de la pira (Donham, 1991) y entre piras (Jorsal y Thomsen, 1988; Flori *et al.*, 1995). *Actinobacillus pleuroneumoniae* y *Mycoplasma hyopneumoniae* se asocian comúnmente con cuadros subclínicos de enfermedades y su presencia constante, aunada a otros patógenos considerados como flora normal, agentes virales, efectos ambientales y manejo inapropiado de la medicina preventiva de la pira ocasionan enfermedades (Nienaber y Hahn, 1984; Sumano y Caballero, 1997; Paige *et al.*, 1999), que van a generar una elevada mortalidad, deficiente ganancia de peso, mala conversión alimenticia, aumento en el número de días en que los cerdos llegan a rastro, excesivo gasto por medicamentos y altos decomisos en rastros (Paige *et al.*, 1999; Wallmann, 2006). Todo esto se va a ver reflejado en pérdidas económicas.

En México, las neumonías representan la principal causa de muerte en cerdos, y el uso indiscriminado de antibacterianos ha fomentado la aparición de cepas bacterianas resistentes. La resistencia bacteriana causada por el recurrente mal uso de antibióticos, particularmente como recurso en la llamada metafilaxia o profilaxis estratégica, facilita el establecimiento y prevalencia de las enfermedades respiratorias (Schwarz *et al.*, 2004; Alali *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2009).

Debido a la infraestructura de las granjas porcinas, existen tres estrategias importantes para evitar o disminuir las enfermedades respiratorias. Estas estrategias dependerán de la región donde se localicen y el tipo de granja y son:

- Bioseguridad, control de instalaciones, flujo interno y externo de la granja.
- Medicina preventiva contra antígenos específicos, uso de vacunas y bacterinas.
- Farmacoterapia con antibióticos premezclados en el alimento o el agua de bebida (Agersø *et al.*, 1998; Hayes *et al.*, 2009).

Algunos de los antibióticos comúnmente utilizados en la medicina preventiva y en la terapéutica contra agentes bacterianos involucrados en patologías del sistema respiratorio de porcinos como *A. pleuropneumoniae*, administrados vía parenteral o en el alimento, son tetraciclinas, ampicilina, eritromicina, penicilina G, gentamicina, lincomicina, neomicina, estreptomina y tiamulina. Los antibióticos de uso recurrente en el agua de bebida son tianfenicol, enrofloxacin, fosfomicina, lincomicina, sulfas-trimeroprim y florfenicol (Wallgren *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2002; Rosengren *et al.*, 2007).

El registro del consumo de agua en las granjas porcinas para los medicamentos administrados en el agua de bebida es de suma importancia para garantizar que se alcancen dosis terapéuticas apropiadas y se optimicen las bondades de los antibacterianos, evitando la sub dosificación.

1.1. Consumo de agua

El agua cumple varias funciones dentro del organismo animal. Entre las más importantes podemos citar a la función estructural, al formar parte de los tejidos; también proporciona el medio para la movilización de nutrientes y productos de desecho, mantiene constante la temperatura corporal y el equilibrio ácido-base, lubrica las articulaciones y es el medio esencial donde tienen lugar las reacciones bioquímicas de los procesos digestivos y metabólicos (Nagai *et al.*, 1994).

En el cuadro 1 se presentan las concentraciones de agua en los tejidos muscular y graso del cerdo.

Cuadro 1. Porcentaje (%) de agua contenida en músculo y grasa del cerdo.

Tejido	Agua	Proteína	Lípidos	Minerales y carbohidratos	Total
Muscular	70	20	8	2	100
Graso	15	2	75	8	100

(Nagai *et al.*, 1994)

El agua que se obtiene de la humedad natural de los alimentos (4%) y aquella proveniente del metabolismo oxidativo de los nutrientes (o agua metabólica) proporciona de 16 al 19 % de las necesidades del animal, lo que podría no ser mucho si se compara con lo aportado por el agua de bebida, que cubre 77 a 80% de sus necesidades. A pesar de ello, los tres tipos de suministro de agua (agua de bebida, agua de los alimentos y agua metabólica) son necesarios para mantener un adecuado equilibrio fisiológico.

El mantenimiento del equilibrio hídrico es extremadamente importante, ya que pequeños cambios en el mismo pueden causar serios daños en la salud del cerdo, siendo los mecanismos internos de regulación de la sed y de la orina altamente sensibles.

Cincuenta y seis por ciento del agua se elimina por la orina, 30% por la respiración y 5% por las heces, reteniéndose 9% por necesidad de crecimiento (Zdzislaw *et al.*, 1995). En general los cerdos jóvenes necesitan más agua por kilogramo de peso vivo que los animales más viejos (Nienaber y Hahn, 1984).

Con un consumo *ad libitum* de agua, un cerdo en la fase de engorda consume de 2.2 a 2.8 litros de agua por kilo de materia seca ingerida, mientras que un lechón ingiere de 3 a 3.5 veces más agua que alimento (Almond, n.d). Es decir, para la 1ª semana post-destete la relación agua/alimento es de 4:1 mientras que para la 4ª semana es de 6:1 (Zdzislaw *et al.*, 1995).

En los cerdos, el consumo de agua tiene lugar aproximadamente entre las 7:30 y 16:30 horas (Agersø *et al.*, 1998) y está relacionado directamente con la temperatura ambiental y el consumo de alimento.

En cuanto a la temperatura, en condiciones de termoneutralidad, las necesidades de agua de bebida son de alrededor del 10% del peso vivo. Con el aumento de temperatura ambiental se incrementa el consumo, existiendo dos patrones de consumo en función de la temperatura ambiental (Nienaber y Hahn, 1984):

- Termoneutralidad, temperatura ambiental ≤ 27 °C: Empiezan a beber entre 5-6 am, alcanzando el pico al medio día y por la tarde se reduce el consumo hasta que anochece.
- Calor, temperatura ambiental ≥ 27 °C: Aparecen dos picos de consumo, entre 8-9 am y 5-8 pm. Al medio día y noche se produce una caída de consumo.

El requerimiento del vital líquido en la etapa del destete (7- 10 kg) es de 0.12 a 0.14 litros por kilo de peso vivo al día (Carr, 1994). Estas estimaciones no toman en cuenta el desperdicio, que se reporta en la literatura de 25 a 60%, especialmente en bebederos de chupón (Torrey y Widowski, 2006). En el cuadro 2 se muestran algunos factores que pueden incrementar la demanda de agua (Quiles y Hevia, 2006).

Cuadro 2. Factores que afectan el consumo *ad libitum* de agua en cerdos destetados

Incremento	Reducción
Estrés por calor	Estrés por frío
Hambre	Agua tibia o caliente
Aburrimiento	Agua muy salada
Dieta alta en proteínas	Enfermedades
Dieta alta en minerales	
Comida en pellets	

En la mayoría de las naves de transición, donde los cerdos se alimentan *ad libitum*, el consumo de agua permite predecir y controlar el crecimiento de los cerdos, de mejor manera que el consumo de alimento (Brooks y Carpenter, 1990). Mientras que la ingesta de alimento depende de la cantidad y de las características del comedero, el agua queda generalmente bajo el control directo de los cerdos, suponiendo que los bebederos se mantengan en buenas condiciones (Leibbrandt et al., 2001).

Para registrar el consumo de agua por etapa y/o nave se necesita un medidor instalado en la conducción de agua de bebida, el cual sólo incluya el agua destinada para los chupones o bebederos de la nave. En el cuadro 3 se detallan los requerimientos de agua para cada fase de producción, así como el caudal y la altura a la que deben colocarse los bebederos de chupón (Brumm, 2006).

Cuadro 3. Requerimientos mínimos de agua para cada fase de producción

Fase	Peso (Kg)	Consumo (L/día)	Caudal (ml/min)	Altura del piso al chupón (cm. 45°)	Altura del chupón (cm. 90°)
Gestación	-	Variable	1.5-1.0	90	70
Lactación	-	12-20	1.0-2.0	90	75
Lechones	-	Variable	0.5-0.7	15	10
Transición	5	1.0 -2.0	0.5-1.0	30	25
Transición	7	1.5 – 2.5	0.5-1.0	35	30
Engorda	15	2.5 – 3.0	0.5.1.0	45	35
Engorda	20	3 -4	0.5.1.0	50	40
Engorda	25	3-4	0.5.1.0	55	45
Engorda	50	5-7	0.5.1.0	65	55

(Brumm, 2006)

El registro de las lecturas del consumo diario de agua es importante así como el desarrollo de métodos para mostrar los valores totales diarios en gráficos, los cuales ayudan a evidenciar cambios en los consumos de agua (Brumm, 2006). La disminución del consumo de agua por tres días consecutivos o un descenso en el consumo de agua de 30 a 40% de un día para otro son indicadores del estado de salud, con repercusión directa en el crecimiento de los cerdos (Nagai *et al.*, 1994)

1.2. Terapéutica

El mayor control regulatorio sobre la distribución de fármacos y la documentación requerida para terapia son tendencias mundiales. Armonización es la palabra usada en el mundo para describir el esfuerzo hacia los estándares internacionales en la regulación de la terapia animal. El *Codex alimentarius*, publicado por la Organización Mundial de la Salud y la Organización de Alimento y Agricultura, está trabajando hacia la formulación de dichos estándares en la terapia internacional (Straw y Taylor, 2006).

Para el *Codex alimentarius*, una base de conocimientos de cuatro puntos y un proceso de razonamiento se vuelven necesarios en la decisión de la terapia a aplicar: 1) Conocimiento completo de la farmacología; 2) diagnóstico médico objetivo como base para la terapia; 3) familiaridad con la implementación de todas las regulaciones pertinentes, como también de los métodos sistematizados para la documentación de la terapia y 4) una apreciación de las ramificaciones económicas de la terapia (FAO, 2000).

1.3. Dosificación de antibacterianos en el agua de bebida

El consumo de agua en animales clínicamente enfermos y con enfermedades agudas disminuye considerablemente. A pesar de ello, sigue siendo la manera más viable de medicar estas poblaciones, ya que la terapia parenteral implica mayor inversión en tiempo, manejo y equipo, lo que incrementa los costos (Pijpers, 1992).

La elección y utilización de los fármacos adicionados al agua de bebida depende de la capacidad de éstos para disolverse y mantener su estabilidad y niveles terapéuticos. Los sistemas de bebederos y tuberías deben mantenerse limpios, protegidos de la luz y el calor ambiental, prefiriéndose las instalaciones plásticas o de PVC, ya que la herrumbre y las instalaciones galvanizadas disminuyen drásticamente la biodisponibilidad de algunos antibacterianos (Russell, 1992; Sumano y Caballero, 1997; Sumano *et al.*, 2000).

Existen cuatro puntos importantes que inciden directamente sobre una adecuada medicación de los antibióticos en el agua de bebida (Brander *et al.*, 1982):

1. Palatabilidad del producto
2. Disposición del agua
3. Inadecuada colocación de los bebederos
4. Calidad del agua

Algunas de las ventajas de la medicación en agua de bebida es que requiere poco manejo, el antibiótico se incorpora fácil y rápidamente dentro de las naves, permite la redosificación constante. Algunas de sus desventajas son que no se controlan el consumo, el desperdicio o la dosificación individual; el fármaco requiere tener un sabor agradable (palatabilidad) y se requieren adecuados sistemas de distribución y registro (Schiffman *et al.*, 2000; Hayes *et al.*, 2003).

1.4. Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana es una adaptación de los microorganismos a los nuevos productos con el fin de asegurar su persistencia a lo largo del tiempo (Straw y Taylor, 2006).

La resistencia *natural* o *intrínseca* es una propiedad específica de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos, como lo demuestra el aislamiento de bacterias resistentes a los antimicrobianos de una edad estimada de 2000 años encontradas en las profundidades de los glaciares de las regiones árticas de Canadá. Además, los microorganismos que producen antibióticos son por definición resistentes y eso les permite tener ventajas competitivas (Jawetz *et al.*, 2002).

La aparición de la resistencia adquirida en una bacteria se produce a través de mutaciones (cambios en la secuencia de bases de cromosoma) y por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias. En el primer caso, la resistencia se trasmite de forma vertical de generación en generación. En el segundo, la transferencia de genes se realiza horizontalmente, a través de plásmidos u otro material genético móvil como integrones y transposones; esto último no solo permite la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas (Jawetz *et al.*, 2002).

De esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con ellos (Jawetz *et al.*, 2002). Algunos de los mecanismos para desarrollar resistencia a los antibióticos son:

- Producción de enzimas que destruyen el fármaco activo
- Cambio en la permeabilidad hacia el antibacteriano
- Desarrollo de enzimas metabólicamente activas diferentes a las que inactiva el antibacteriano
- Modificación química del blanco sobre el que actúa el antibacteriano
- Desarrollo de vías metabólicas diferentes que pasan por alto la reacción inhibida por el fármaco

1.5. Origen de la resistencia a los fármacos

I. Resistencia de origen no genético a los antibacterianos

La mayor parte de los antibacterianos requieren de bacterias en replicación activa para mostrar sus acciones. Por consiguiente, los microorganismos metabólicamente inactivos (fuera de su estado de multiplicación) pueden ser fenotípicamente resistentes a los fármacos. Sin embargo, su descendencia es completamente susceptible. Estos microorganismos “persistentes” son resistentes al tratamiento y no pueden ser erradicados por los fármacos. No obstante si comienzan a multiplicarse (p. ej., en pacientes inmunosuprimidos) son totalmente susceptibles a los mismos fármacos (Aarestrup *et al.*, 2002; Aarestrup *et al.*, 2008).

II. Resistencia de origen genético a los fármacos

a) Resistencia cromosómica

La mayor parte de los microorganismos resistentes a los fármacos surgen como resultado de cambios genéticos y de los procesos subsecuentes de selección por los antimicrobianos. Esta resistencia se desarrolla como resultado de una mutación espontánea en un *locus* que controla la susceptibilidad a un antimicrobiano determinado. La presencia del antimicrobiano sirve como mecanismo de selección al suprimir los microorganismos susceptibles y favorecer el crecimiento de los mutantes

resistentes al fármaco. Comúnmente los mutantes cromosómicos son más resistentes en virtud de los cambios en un receptor estructural para el fármaco (Aarestrup *et al.*, 2000; Aarestrup *et al.*, 2002; Jawetz *et al.*, 2002).

b) Resistencia extracromosómica

Las bacterias casi siempre contienen elementos genéticos extracromosómicos denominados plásmidos. Algunos plásmidos llevan genes para la resistencia a uno y a menudo a varios fármacos antibacterianos. Los genes de plásmidos de resistencia antimicrobiana con frecuencia controlan la síntesis de enzimas capaces de destruir dichos fármacos. El material genético y los plásmidos se pueden transferir mediante transducción, transformación y conjugación (Kadlec *et al.*, 2009).

c) Resistencia cruzada

Los microorganismos resistentes a un determinado fármaco también lo pueden ser a otros fármacos que compartan un mismo mecanismo de acción. En algunos tipos de fármacos el núcleo activo de la sustancia química es tan similar (p. ej., tetraciclinas) que se puede esperar una amplia resistencia cruzada (Frana *et al.*, 2004).

III. Limitación de la resistencia a los fármacos

En toda infección, el surgimiento de la resistencia a los fármacos puede reducirse al mínimo de las siguientes maneras: 1) mantener concentraciones lo bastante grandes del fármaco en los tejidos como para inhibir a la población nativa y a la primera generación de mutantes; 2) administrar simultáneamente dos fármacos que no produzcan resistencia cruzada, para que cada uno retarde el surgimiento de cepas mutantes resistentes al otro fármaco (p. ej., rifampicina e isoniacida en el tratamiento de la tuberculosis) y 3) evitar la exposición de los microorganismos a un fármaco particularmente valioso, cuyo empleo debe limitarse a situaciones específicas (Wallmann, 2006).

IV. Implicaciones clínicas de la resistencia a los fármacos

Existen evidencias de géneros bacterianos que afectan a humanos que han creado resistencia a diversos antibióticos, tales como: gonococos resistentes a la espectinomicina y algunas quinolonas; meningococos resistentes a las sulfonamidas y rifampicina; estafilococos resistentes a penicilina, tetraciclinas y vancomicina; neumococos resistentes a penicilina G, trimetoprim-sulfametoxazol, eritromicina y tetraciclinas, bacterias entéricas gramnegativas resistentes a tetraciclinas (incorporadas en los alimentos para animales). En EUA el empleo continuo de complementos de tetraciclinas en los alimentos de animales quizá contribuya a la propagación de plásmidos de resistencia y de *Salmonelas* resistentes a los fármacos, en medicina veterinaria (Aquino *et al.*, 2002). Algunos investigadores reportan en aves (Gallay *et al.*, 2007), cerdos en diferentes etapas de crecimiento (Baumgartner *et al.*, 2007; Hendriksen *et al.*, 2008) y trabajadores de las mismas granjas (Padungton y Kaneene, 2003) cepas de bacterias resistentes a antibióticos.

V. Actividad antimicrobiana *in vitro*

La actividad antimicrobiana se cuantifica *in vitro* para determinar 1) la potencia de un antibacteriano en solución; 2) su concentración en líquidos y/o tejidos del cuerpo, y 3) la susceptibilidad de un microorganismo determinado a las concentraciones conocidas del fármaco (Priebe y Schwarz, 2003).

El análisis de la actividad de agentes antimicrobianos *in vivo* es mucho más complejo que las circunstancias *in vitro* algunos factores que intervienen en la interacción fármaco- patógeno y huésped son: 1) Ambiente, 2) actividad metabólica del huésped, 3) distribución del fármaco, 4) localización de los microorganismos y 5) sustancias que interfieren (Shin *et al.*, 2005).

VI. Alteración de la flora microbiana

Los efectos del origen de la resistencia bacteriana por medio de esta vía han sido demostrados en los trabajos de Aarestrup y colaboradores (2000), al encontrar enterococos resistentes a la vancomicina, tetraciclina y otros antibióticos en las heces de cerdos, pollos y seres humanos. En los tres especímenes se halló el mismo gen (VAN-A) de resistencia a la vancomicina. El mismo autor en otro estudio encontró cepas resistentes de *Escherichia coli* en seres humanos, como consecuencia del uso de antibiótico en la producción de alimentos para animales.

1.6. Palatabilidad

La palatabilidad se define como un conjunto de características organolépticas de una sustancia, independientemente de su valor nutritivo, que hacen para un determinado individuo que dicha sustancia sea más o menos placentera.

Como se observa en el cuadro 4, el cerdo es una de las especies con mayor número de botones gustativos, contando aproximadamente con 5,000 en las papilas fungiformes, 10,000 en las papilas circunvaladas y 4,800 en las papilas foliadas, contra 1,600, 6,000 y 3,000 que poseen los seres humanos, respectivamente (Chamorro *et al.*, 1993; Fontanillas y Roura, n.d).

Cuadro 4. Diferencia en la cantidad y tipo de papilas gustativas presentes en humanos y cerdos

Especie	Papilas fungiformes	Papilas circunvaladas	Papilas foliadas
Humano	1600	6000	4800
Cerdo	5000	10000	3000

La rama timpánica responde con mayor intensidad a los estímulos ácidos mientras que el nervio glossofaríngeo responde mayoritariamente a los compuestos amargos. Ambos nervios responden también al glutamato sódico y a ciertos compuestos dulces, como la fructosa, sacarosa y glucosa, mientras que otras sustancias dulces como la taumatina, neoesperidina o sacarina producen poca estimulación. En los cerdos las preferencias a distintas soluciones acuosas dulces responden tanto a concentraciones crecientes como decrecientes de sacarosa, glucosa o sacarina sódica en agua (Goatcher y Curch, sin fecha).

1.7. Olfato

La capacidad de detección olfativa de los cerdos, es mucho mayor si la comparamos con la del hombre, tal vez debido a que cuentan con mayor número de conexiones entre células olfativas y células mitrales (Parfet y Gonyuo, 1991).

Durante la ingestión del alimento, a través de la comunicación retrofaríngea entre la cavidad nasal y bucal, se produce un refuerzo del aroma percibido y se crea una asociación compleja entre gusto y olor. Los estímulos pueden ser complejos y existe una estrecha relación entre los distintos órganos de los sentidos y más concretamente entre el sentido del olfato y del gusto.

1.8. Antecedentes del florfenicol

El florfenicol es un análogo del tianfenicol y se relaciona estructuralmente con el cloranfenicol. A diferencia del cloranfenicol, el florfenicol posee un metilsulfonilo en sustitución del p-nitro, lo que en el ser humano evita la producción de anemia aplásica por residuos. Es una molécula neutra con una alta solubilidad en lípidos, lo que le confiere una excelente distribución a tejidos y fluidos orgánicos (Hayes *et al.*, 2003).

Existen estudios farmacocinéticos en diferentes especies y se ha utilizado en algunas de ellas, tales como cerdos, ovinos, camarones, caprinos conejos patos, pollos de engorda y bovinos. Es un nuevo antibiótico para uso exclusivo en veterinaria (Voorspoels *et al.*, 1999). En 1995 se autorizó su uso inyectable para el tratamiento de enfermedades respiratorias en bovinos y en cerdos en el año 2000 (Priebe y Schwarz, 2003).

El florfenicol se recomienda para el tratamiento de enfermedades respiratorias en ganado (Rooney *et al.*, 2005). Sin embargo, hay evidencia que también es efectivo en cerdos porque su actividad antibacteriana afecta a patógenos de las enfermedades respiratorias de los cerdos, tales como *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Pasteurella multocida*. Por su espectro es evidente que puede

resultar de una gran eficacia en el tratamiento y prevención de enfermedades del cerdo y, de hecho, tiene un importante lugar en la clínica porcina cuando se le administra como premezcla. No obstante, los productores y médicos veterinarios han empezado a incursionar en la medicación vía agua de bebida en esta especie (Voorspoels *et al.*, 1999; Kijima-Tanaka *et al.*, 2003; Jiang *et al.*, 2006).

Cerdos con pleuroneumonía y resistentes a antibióticos como el tianfenicol mejoraban considerablemente empleando florfenicol en el alimento a dosis de (50mg/Kg) (Ueda *et al.*, 1995). El florfenicol administrado en el agua de bebida puede variar en su eficacia debido a factores como el pH, la concentración de cloro, las aguas duras y la presencia de algunos materiales, como lámina galvanizada los cuales afectan su estabilidad y biodisponibilidad.

Existen estudios que sugieren que el florfenicol en dosis de 20 ppm provee una adecuada protección contra *A. pleuroneumoniae*, pero no elimina los signos clínicos ni las lesiones de los animales, mientras que concentraciones de 40 ppm, incrementan la eficacia, disminuyendo las lesiones y signos causados por este agente (Liu *et al.*, 2003).

El principal obstáculo es que, a diferencia de lo observado en aves comerciales, el cerdo muestra una elevada capacidad para detectar sabores en el agua y a menudo se reduce drásticamente su consumo cuando el agua ha sido medicada, incluso llegando a rechazarla por completo (Agersø *et al.*, 1998).

1.9. Características químicas del florfenicol

El nombre químico del florfenicol es (d-tre-2,2-N-c-a(fluormetilo)-β-hidroxi-pp(fenetilo)acetamida). Su fórmula condensada es: C₁₂H₁₄CL₂FNO₄S (Figura 1), con peso molecular de 358.2 daltones y punto de fusión entre 153 y 154 °C. El pH es de 3 a 9; es soluble en solventes orgánicos (polietilenglicoles, N-metilpirrodilona), poco soluble en agua, pero con una solubilidad relativamente elevada en lípidos., el coeficiente de partición octanol agua es de 2.36 (Park *et al.*, 2008).

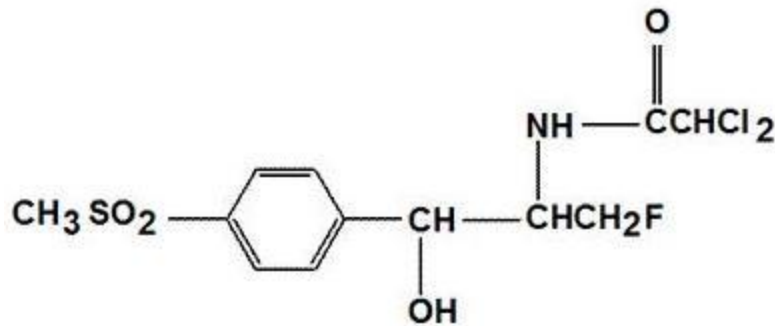


Figura 1. Fórmula química del florfenicol

1.10. Mecanismo de acción antibacteriana y espectro

El florfenicol se une irreversiblemente a la subunidad 50s ribosomal, por lo que inhibe la síntesis de proteínas bacterianas. Ataca a la enzima peptidil-transferasa, evitando la transferencia de aminoácidos en la formación de cadenas peptídicas y la subsecuente formación de proteínas. Los receptores bacterianos son los mismos que para el cloranfenicol; es un antibiótico bacteriostático. Su espectro de acción antimicrobiana es más potente y amplio que el del cloranfenicol y el del tianfenicol frente a bacterias gram-negativas y gram-positivas. Algunos de los géneros bacterianos sensibles al florfenicol implicados en el complejo respiratorio porcino son *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Salmonella choleraesuis* y *typhi*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus* sp y *Klebsiella pneumoniae*. Existen estudios en los que se encontró que el punto de corte de la concentración mínima inhibitoria (CMI) considerada a partir de la primera dilución en donde ya no hubo crecimiento bacteriano fue $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ MIC 50 Y MIC 90 del .5 μg y 0.12 a 4 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Hayes *et al.*, 2009).

En el cuadro 5 se presentan los valores de la CMI referidos en la literatura para algunas especies bacterianas que afectan el sistema respiratorio de los cerdos.

Cuadro 5. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de florfenicol para ciertos patógenos que afectan vías respiratorias en cerdos

Patógeno	CMI 50 (µg/ml)	CMI 90 (µg/ml)
* <i>Pasteurella multocida</i>	0.25-1	0.5
	0.25-0.5	0.5
		0.78
** <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	0.2-1.56	0.5
	0.12-1.0	
* <i>Bordetella brochiseptica</i>	1.0-3.2	8
	1.0-4.0	2

*(Shin *et al.*, 2005); **(Priebe y Schwarz, 2003)

1.11. Farmacocinética

El florfenicol administrado a los cerdos de forma oral se absorbe rápida y completamente del tracto gastrointestinal, de donde pasa al torrente sanguíneo y es distribuido a los tejidos y órgano blanco. Las concentraciones son relativamente más altas en bilis, riñón, intestino delgado y orina (Hayes *et al.*, 2009).

Administrado vía oral en cerdos alcanza su pico máximo de concentración en suero a las 3 horas y su vida media de eliminación es de 64 - 80 horas. En cerdos sanos, la concentración máxima plasmática es de 10.84 µg/ml. El florfenicol presenta una amplia distribución en función de los valores calculados del volumen de distribución y del volumen de distribución en fase estacionaria (1.17 L/Kg y de 0.95 L/Kg respectivamente) (Park *et al.*, 2008).

En el cuadro 6 se muestran algunos de los parámetros farmacocinéticos detectados por el método de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) a partir de plasma de cerdos a los que se les administró florfenicol a diferentes dosis en bolo por vía oral.

Cuadro 6. Parámetros farmacocinéticos encontrados por HPLC en plasma por varios autores a partir de la dosificación de florfenicol vía oral en bolo en cerdos sanos.

Parámetro de referencia	(Liu <i>et al.</i> , 2003)	(Jiang <i>et al.</i> , 2006)	(Jiang <i>et al.</i> , 2006) En ayuno (b)	(Jiang <i>et al.</i> , 2006) Pospandrial(b)	(Voorspoels <i>et al.</i> , 1999) (15mg/kg)
AUC(mg/ml)	65.89 ±12.79	132.1 ± 17.6	91.4 ±7.5	88.5 ± 2.2	100.5 ±16.1
T1/2B(h)	2.87 ±1.64	10 ± 2.1	6 ± 0.3	6.4 ± 0.9	5.5 ±4.2
Cmax (mg/ml)	10.84 ±2.71	9.9 ± 2.4	15.1 ± 0.7	7.5 ±1.7	14.8 ±2.6
Tmax (h)		1.5 ± 0.6	1.2 ± 0.8	2 ±0.7	3.0 ±0.9

AUC - Área debajo de la curva, concentración-tiempo extrapolada al infinito; T1/2B - vida media de eliminación en la fase B; Cmax - Concentración máxima en el plasma; Tmax - tiempo de máxima concentración.

Para conseguir una terapéutica adecuada con florfenicol soluble se requiere lograr concentraciones séricas terapéuticas, mismas que deberán mantenerse por lo menos durante 75% del día, ya que se ha señalado que es cuando el fármaco tiene un efecto óptimo; esto es, su relación farmacocinética/farmacodinamia (PK/PD) es tiempo dependiente: debe de estar 3 a 4 veces por arriba de la CMI por lo menos durante 4 horas.

1.12. Tiempo de retiro y residuos

En los cerdos el tiempo de retiro recomendado es de 16 días post aplicación intramuscular. En el cuadro 7 se muestran los límites máximos de residuos (LMR) en los tejidos del cerdo para productos de consumo humano permitidos por la EMEA (European Medicines Agency, por sus siglas en ingles).

Cuadro 7. Límites máximos de residuos permitidos en tejidos de cerdo utilizados en productos para consumo humano (EMEA)

Sustancia activa	Residuo marcador	Especie	Tejido	Límites Máximos de Residuos
Fluorfenicol	Amina-fluorfenicol	Porcinos	Músculo	300mg/ml
			Piel y grasa	500 mg/ml
			Hígado	2000 mg/ml

1.13. Clasificación de los antibióticos dependientes de la concentración/tiempo

La concentración mínima Inhibitoria (CMI), es definida como la concentración más baja del fármaco capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, esta CMI permite observar el comportamiento de los antibacterianos en relación con ciertas cepas bacterianas in vitro y que difiere de su comportamiento in vivo debido a diversos factores.

El grupo de antibacterianos clasificado como concentración-dependiente (fluoroquinolonas, aminoglicósidos) se caracterizan por conseguir la muerte bacteriana en poco tiempo y dependiente de la concentración del fármaco, por lo que se requieren altas concentraciones del fármaco en plasma y tejidos, con lo que se incrementa la actividad bactericida (Kasiakou *et al.*, 2005).

1.14. Usos clínicos en cerdos

El florfenicol se utiliza en el tratamiento de enfermedades respiratorias asociadas a *Actinobacillus pleuroneumoniae* y *Pastereulla multocida* (Voorspoels *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2003). Se encuentran en presentación oral para agua de bebida a concentración de 23 mg/ml o 400 mg por galón de agua (100 ppm.), administrándose por 5 días. En la presentación inyectable intramuscular, a dosis es de 15 mg/kg, repitiendo a las 48 horas. En la presentación para alimento, la dosis recomendada es de 20 mg /Kg. En el cuadro 8 se muestran las presentaciones más recientes en el mercado para uso del florfenicol en cerdos, dosis y vías de administración.

Cuadro 8. Presentación comercial del florfenicol, vía de administración y dosis recomendadas

Presentación	Vía de administración	Dosis
Premezcla para alimento	Oral	20 mg/Kg
Inyectable	Intra muscular (IM)	15 mg/Kg
Solución para agua de bebida	Oral	10 - 23 mg/Kg

(Foster, 2008)

Diferentes laboratorios farmacéuticos han logrado formular preparados a base de florfenicol soluble, argumentando que evitan que el consumo de agua se deprima y, gracias a ello, se logren concentraciones séricas terapéuticamente acordes con la relación PK/PD mencionada. El ensayo que se describe a continuación pretende demostrar la diferencia en la palatabilidad de tres preparados de florfenicol soluble, lo cual afecta directamente el consumo de agua y, por lo tanto, la dosificación real, incidiendo en los valores séricos del fármaco en los cerdos medicados.

2. Justificación

A pesar de que existen antibacterianos de uso exclusivamente veterinario, se han encontrado genes de resistencia bacteriana *aaC_c4* (aparamicina) y *hphB* (higromicina) co-transferidos tanto en animales como en seres humanos. En este sentido, la Comisión de la Unión Europea en el mes de marzo de 2002 hizo hincapié en la necesidad de desarrollar alternativas válidas a los antibióticos promotores del crecimiento. Estas alternativas deben cumplir dos requisitos fundamentales:

- Ser eficaces y, por tanto, ejercer un efecto positivo sobre la producción animal.
- Carecer de riesgo para la salud humana, la salud animal y el medio ambiente.

En este sentido, se pueden considerar dos alternativas no excluyentes al uso de los antibióticos como promotores de crecimiento:

A.- Implantación de nuevas estrategias de manejo en producción animal, encaminadas a reducir la incidencia de las enfermedades en los animales, de forma que se pueda evitar el empleo de los antibióticos con fines terapéuticos y las pérdidas en los niveles de producción ocasionadas por las enfermedades.

B.- Utilización de otras sustancias que tengan efectos similares a los antibióticos promotores de crecimiento sobre los niveles productivos, pero que no acarreen los problemas de resistencia. En cuanto a las sustancias alternativas, destacan como principales opciones el empleo de probióticos y prebióticos, los ácidos orgánicos, las enzimas y los extractos naturales. Estos productos alternativos se pueden utilizar individualmente o en mezclas sinérgicas según los casos (Delsol *et al.*, 2005).

Las dosis metafilácticas se definen como la aplicación de un antibacteriano en masa en un aumento estratégico para prevenir la instauración del cuadro clínico (Catry *et al.*, 2008). Sus objetivos son: reducir la morbilidad, mejorar el rendimiento, suplir la inexperiencia del personal y mejorar los beneficios. Sin embargo, el manejo en la administración de dosis metafilácticas erróneas son las que han contribuido a la

formación de resistencia bacteriana contra los antibacterianos utilizados a lo largo de los años y en las diferentes especies bacterianas, ya que en la práctica las dosis utilizadas para la metafilaxia o dosis como promotores de crecimiento son dosis a la mitad de las terapéuticas lo que resulta en una subdosificación (Voorspoels *et al.*, 1999; Herradora y Martínez-Gamba, 2003).

Por lo anteriormente mencionado, es importante probar en cerdos fármacos con adecuada palatabilidad y verificar el consumo de agua por etapa en las granjas para calcular las dosis de antibacterianos adecuadas, que permitan alcanzar las concentraciones terapéuticas requeridas para evitar la resistencia bacteriana en la industria porcina, disminuyendo costos y aumentando su efectividad contra las enfermedades de vías respiratorias.

3. Hipótesis

La palatabilidad de los diferentes preparados de florfenicol soluble influyen de manera directa sobre el consumo de agua medicada y, por ende, sobre la dosificación real obtenida detectada a partir de los parámetros farmacocinéticos obtenidos.

4. Objetivo General

Demostrar la diferencia en la palatabilidad de tres preparados solubles de florfenicol para agua de bebida en cerdos y la importancia de conocer el consumo de agua de los cerdos en las granjas para calcular la dosis requerida con el fin de establecer dosis terapéuticas.

5. Objetivos específicos

Obtener el consumo de agua de los cerdos en estudio en situaciones reales en una granja antes de la administración del florfenicol en el agua de bebida.

Registrar el cambio en el consumo de agua en los cerdos en estudio después de la administración de tres preparados de florfenicol.

Comparar la diferencia en la palatabilidad del florfenicol a dos diferentes dosis, comparando dos genéricos con el de patente.

Obtener parámetros farmacocinéticos del florfenicol en el plasma de los cerdos por medio del estudio microbiológico de Bennett con las dos dosis administradas.

6. Material y Métodos

Los experimentos se llevaron a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, ubicado en el Km. 2 de la carretera Jilotepec-Corrales, en Jilotepec, Estado de México. El centro se encuentra en los 99° 31' 45" de longitud oeste y 19° 57' 13" latitud norte, a una altura de 2,250 metros sobre el nivel del mar. El clima de la región es templado en verano y extremoso en invierno; la temperatura media es de 18° C y varía entre los 12° C y los 24° C. El régimen de lluvias comprende de junio a septiembre y el promedio de precipitación pluvial es de 608 mm, iniciando las primeras heladas en octubre y prolongándose hasta marzo.

Se utilizaron 24 cerdos, hembra y machos, híbridos, cruce madre Landrace – Yorkshire y padre línea terminal de Pietran, Duroc y Ham, de 48 días de edad (18 días post-destete) y peso promedio de 22.9 Kg. Los tratamientos fueron asignados en forma aleatoria en seis corraletas de 1.48 x 1.48 metros con piso de rejilla, con 4 cerdos en cada una. Los animales no habían sido tratados previamente con antibacterianos y se encontraban desparasitados e inmunizados conforme a las prácticas de manejo de la granja. Al momento de iniciar el estudio consumían alimento pre-iniciador, con base en sorgo – soya, cubriendo las necesidades de la etapa correspondiente (National Research Council, 1988).

Para el suministro de agua se emplearon bebederos de chupón con una capacidad de 8,800 mL, ubicados a 25 cm de altura del piso. Para el suministro de alimento se utilizaron comederos tipo tolva, con cinco espacios, ambos para la etapa correspondiente al destete.

A cada corral se asignó en forma aleatoria un tratamiento distinto, seis en total, distribuidos como sigue: tres grupos con dosis de (11.08 mg/kg) de florfenicol de tres laboratorios distintos, el de patente y dos genéricos y tres grupos triplicando la dosis (33.24 mg/kg) con la finalidad de observar la palatabilidad e influencia directa sobre el consumo del agua a mayor concentración de florfenicol.

Se midió el consumo de agua en los 6 grupos durante 10 días para obtener el consumo basal promedio por kilo de peso vivo.

El día 10 a los 6 grupos se les restringió el agua a partir de las 20 horas, y el día 11 a las 8.00 am se le administró a cada grupo el florfenicol con la dosis asignada, mezclándolo previamente por agitación e incorporándolo en el agua de bebida, durante 5 días, se observó y registro el tiempo en el que cada grupo terminaba de consumir el agua medicada.

El día 15 a los 6 grupos se suspendió el aporte de agua a las 20 horas, reiniciando su administración el día 16 a las 8:00 horas esta vez usando agua medicada, para tomar muestras de sangre a diferentes tiempos recuperando el suero y posteriormente se llevo a cabo el estudio microbiológico de Bennet (Bennett *et al.*, 1966). Durante los 15 días del estudio se registraron la temperatura ambiente y la humedad relativa. El estudio se realizó en varias etapas, mismas que se describen a continuación.

6.1. Etapa 1. Adaptación y cuantificación del consumo basal

Los cerdos se sometieron a una etapa de adaptación de 5 días previo al inicio del estudio (48 días de edad), con la finalidad de evitar el estrés por cambios del medio ambiente, alimentación y manejo. Para cada grupo se cuantificó el consumo basal de agua diariamente, durante 7 días, empleando tinacos de plástico de 8,800 ml por cada corral, supervisando su nivel en 4 horarios diferentes (8:00, 12:00, 16:00 y 20:00 horas) y rellenando manualmente hasta su borde superior en cada revisión. Los tinacos se ubicaron a 25 cm de altura del piso y a 5 cm de altura del cerdo más pequeño, estando a la vista en cada corral.

6.2. Etapa 2. Criterios para la dosificación

Las indicaciones para administrar los productos comerciales en el agua de bebida son las siguientes. A partir del producto comercial que viene al 10 % se debe administrar de 50 a 100 mL del producto comercial en 100 L de agua de bebida. Esta

dilución equivale a una concentración de 5 – 10 g /100mL de agua, por lo que cada cerdo alcanza, según el laboratorio dosis de 200 mg por cerdo. Los tinacos que se utilizaron en este estudio fueron de 8,800 mL de agua, por lo que se le administraron 10 mL del producto comercial equivalente a 1,000 mg de florfenicol. La concentración de florfenicol en cada mL de agua medicada fue de 0.11mg/mL. Los corrales y tratamientos se asignaron aleatoriamente, constando el experimento de seis tratamientos (A1, B1, C1, A2, B2, C2), para los cuales (A) (B) y (C) corresponden a 3 productos comerciales, cada uno subdividido a su vez en dos niveles correspondientes a las dosis utilizadas, siendo (1) con dosis de 11.08 mg/Kg y (2) 33.24 mg/Kg, cuadro 9.

Cuadro 9. Dosis de florfenicol por tratamiento

Tratamientos	Dosis
A1 Colmax®	
B1 Nuflo®	11.08 mg/Kg
C1 Nutricol®	
A2 Colmax®	
B2 Nuflo®	33.24 mg/Kg
C2 Nutricol®	

Las dosis utilizadas en el presente estudio tomaron en cuenta la dosis recomendada por laboratorios comerciales (10 mg/Kg) y la sugerida en la literatura revisada (20 mg/Kg). El criterio para las dosis utilizadas en el nivel (1), fue la dosis comercial, que representa la dosis mínima, y para el nivel (2) la dosis fue triplicada para observar el efecto de la palatabilidad de los tratamientos evaluados, como se observa en el cuadro 10.

Cuadro 10. Comparativo entre dosis de florfenicol (mg/Kg)

Tratamientos	Total de peso vivo (Kg)	Recomendado la literatura	Recomendado por laboratorio	Dosis utilizada en el estudio
A1 Colmax®	90.2	1,804	902.0	999
B1 Nuflor®	86.4	1,728.0	864.0	957
C1 Nutricol®	76.9	1,538	769	852
A2 Colmax®	93.4	5,604	2,808.0	3,104
B2 Nuflor®	98.6	5,916	2,958	3,277
C2 Nutricol®	103.6	6,216.0	3,108.0	3,443

* Dosis utilizada en el estudio incluyendo merma de 25% en el consumo de agua.

6.3. Etapa 3. Cuantificación del consumo de agua medicada

a) Al día 10 de la medición del consumo de agua basal se pesaron los cerdos de cada corral, y se les retiró el agua a las 20:00 horas del día 10 y a las 8:00 horas del día 11 se les administró el agua medicada en los tinacos, previamente homogenizada con los florfenicoles, registrando el tiempo en el que cada grupo terminaba el agua medicada, para posteriormente llenar el tinaco con agua sin fármaco. El día 11 se administró el medicamento en el agua según los tratamientos ya descritos y se registró el tiempo en el que consumieron el agua medicada, antes de llenar los bebederos nuevamente con agua sin medicamento.

Es necesario señalar que la unidad de observación fueron los mismos 4 cerdos de la unidad experimental

b) Se obtuvo el consumo de ml/kg/h de agua con florfenicol basándose en el tiempo en el que cada grupo de cerdos terminó de consumir el agua medicada y se calculó la cantidad total de agua consumida por cada individuo en una hora.

c) Se obtuvo la concentración de medicamento encontrada en cada mL de agua medicada utilizando la siguiente ecuación:

Concentración mg/mL = mg florfenicol / ml agua en los tinacos de cada corral

d) La unidad de análisis fue el consumo de agua de los 4 cerdos de la unidad experimental. Se calcularon los promedios y desviaciones estándar del consumo de agua en mL/kg/h en los seis grupos de cerdos, y para los días 11 al 15 se registró el tiempo que requirió cada grupo de cerdos de cada tratamiento para lograr el consumo total del agua medicada.

Consumo/h = Consumo total de agua (mL) / número de horas que tardaron en consumirla.

e) Los cerdos de cada corral se pesaron los días 1, 5, 10 y 16. A partir de estos pesos se estimaron los de los días intermedios, que se tomaron en consideración para calcular el consumo en mL/kg/h de los días 11 al 15.

f) Para evaluar el comportamiento de los valores observados en el consumo de agua de los 6 tratamientos durante los 5 días de medicación se ajustó un modelo de regresión lineal simple o en su caso un modelo cuadrático. El criterio para la aplicación de uno u otro fue el comportamiento de los datos observados y el coeficiente de determinación (R^2).

El modelo de regresión lineal simple utilizado fue:

$$Y_t = \beta_0 + \beta_1 \times t + \varepsilon_t, \quad 0 \leq t \leq 5$$

Donde

β_0 = Efecto del intercepto al origen, valor desconocido.

β_1 = Efecto de regresión de los días de aplicación del florfenicol en el consumo de agua. Valor desconocido.

t = Número de días en que se aplicó el florfenicol, $t = 0,1,2,3,4,5$.

ε_t = Error experimental ocurrido en el tiempo t , $0 \leq t \leq 5$. Es una variable aleatoria tal que $E(\varepsilon_t) = 0$, $Var(\varepsilon_t) = \sigma^2$ y no correlacionadas.

Y_t = Consumo de agua en el día t . Es una variable aleatoria tal que la esperanza de $Y_t = \beta_0 + \beta_1 t$, $Var(Y_t) = \sigma^2$ y no correlacionadas.

El modelo cuadrático utilizado fue:

$$Y_t = \beta_0 + \beta_1 t + \beta_{11} t^2 + \varepsilon_t, \quad 0 \leq t \leq 5$$

Donde

$Y_t, \beta_0, \beta_1, t, \beta_{11}, \varepsilon_t$ Son términos iguales a los del modelo de regresión lineal simple descritos anteriormente.

β_{11} = Efecto de cuadrático de curvatura de la variable tiempo, valor desconocido.

t^2 = Es la variable tiempo elevado al cuadrado, $0 \leq t \leq 5$

Para el procesamiento y análisis estadístico de los datos se utilizó el paquete computacional JMP versión 7 (SAS, 2007).

Etapa 4. Obtención de muestras de sangre

El día 16 se tomaron muestras de sangre de cada individuo de la vena cava craneal, obteniendo en promedio 8 mL en tubos estériles y sin anticoagulante con los siguientes intervalos: basal \rightarrow 35 minutos \rightarrow 1.5 horas \rightarrow 3 horas \rightarrow 6 horas \rightarrow 9 horas. Inmediatamente después de la colección, cada una de las muestras se centrifugó a 3000 rpm, se recuperó e identificó el suero, y se congeló a -4° C, hasta su análisis, 5 días después.

6.4. Etapa 5. Concentración sérica de florfenicol

La concentración de florfenicol en cada muestra de suero se determinó mediante el análisis microbiológico cuantitativo/cualitativo descrito por Bennet *et al.*, (1996), el cual mide la concentración en términos de la actividad antibacteriana *in vitro* del fármaco.

A. Agar

El agar utilizado fue Mueller Hinton (Bioxon), preparado según indicaciones que marca el producto.

B. Cultivo bacteriano

Se utilizó una cepa bacteriana ATCC (American Type Culture Collection) *Bacillus subtilis* 6633.

C. Estándar bacteriano (Obtención de la spora de *Bacillus subtilis* 6633)

En un tubo de tapón de rosca se colocaron 5 mL de agua destilada y una asada del cultivo bacteriano *Bacillus subtilis* (resembrado 24 horas antes). Se resembró en una caja de Petri y se cultivó a temperatura ambiente el crecimiento se recogió con una espátula y se centrifugo durante 20 minutos a 3500 rpm, se decantó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento con 50 mL de caldo de cultivo estéril, calentando la suspensión por 30 min a 70°C posteriormente se refrigeró por dos para después impregnar la placa del agar una vez estandarizado por medio de los índices de Mc Farland (Bio Mériux) y se realizaron los ajustes necesarios para obtener una concentración al 0.5 de Mc Farland.

La turbidez obtenida se leyó por medio de un espectrofotómetro a una transmitancia del 60 – 65%, la cual corresponde a una concentración bacteriana de 1×10^{10} .

D. 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. Sobre el agar ya frío se colocaron 200 µL de la suspensión de la spora bacteriana y con un hisopo estéril se distribuyó homogéneamente sobre todo el agar dejando reposar a temperatura ambiente por dos horas.

E. Preparación de las diluciones

Se pesaron 20 mg de sal pura de florfenicol (Shering Plough), se colocaron en vaso de precipitados y se vertieron 10 ml de agua desionizada. Se marcaron 10 tubos de 5 mL y un tubo de 15 mL con el número 0. En el tubo numerado con el 0 se colocaron 9 mL de agua desionizada y en cada uno de los demás tubos se colocó 1 mL de la solución contenida en el vaso de precipitados y se coloca en el tubo 0. Se homogenizó y de ese tubo se obtuvo 1 mL que se agregó al tubo 1; se homogenizó y se tomó 1 mL del tubo agregándolo al tubo 2; de esta forma sucesivamente hasta completar 7 tubos, obteniéndose las diluciones que aparecen en el cuadro 10.

Cuadro 11. Diluciones del estándar del florfenicol para la preparación de las placas

Identificación	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)
Vaso de Precipitados	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
Tubo 7	0.15625
Tubo 8	0.078125
Tubo 9	0.0390625
Tubo 10	0.01953125

(Bennett *et al.*, 1966)

F. Preparación de las placas

Una vez preparada la placa y con ayuda del sacabocados se realizaron a lo largo del refractario dos hileras con 10 pozos cada una. En cada pozo se colocaron 100 μl de cada una de las diluciones por duplicado. Se trabajaron 5 placas en el mismo día con la misma metodología, con la finalidad de tener un total de 10 lecturas. Se incuban durante 24 horas a 37° C, posteriormente a la incubación se miden los halos de inhibición por pozo y por placa.

G. Procesamiento de las lecturas de los halos de inhibición

Se obtuvieron medias y desviaciones estándar del diámetro de halos de inhibición de cada una de las diluciones. A partir de los cuáles y con ayuda de los programas Microcal Origin ¹ y Excel ² , se obtuvieron las gráficas de mL de halos de inhibición vs concentración.

H. Procesamiento de los sueros

Se prepararon las placas con la misma concentración de bacteria del mismo modo que se prepararon las placas para obtener el estándar por el método de Bennet *et al.*, se realizaron los pozos y en la placa se sembraron 100 μ L de suero obtenido en cada tratamiento a diferentes tiempos de sangrado, incubando durante 24 horas, para posteriormente realizar las lecturas de los mm de halos de inhibición.

¹ Microcal Origin versión 4.0 Scientific and Technical Graphics in Windows. Microcal software Inc.

² Microsoft Excel.1985-97

7. Resultados

7.1. Etapa 1. Adaptación y cuantificación del consumo basal

Fueron analizados los consumos de agua por tratamiento durante la totalidad del experimento y en sus dos etapas, a partir de ellos se calculó el porcentaje de disminución en el consumo de agua antes y después de la medicación con florfenicol, cuadro 9 y figura 2.

Cuadro 12. Promedio (Desviación estándar) para consumos de agua (mL/Kg/h) por día, por tratamiento.

Tratamientos	Consumo de agua durante todo el experimento (13 días)	Consumo de agua sin medicación (Primeros 8 Días)	Consumo de agua medicada (Últimos 5 días)	Disminución en consumo de agua antes y durante la medicación (%)
A1 Colmax®	10.46 ±0.92	10.75 ±0.78	9.99 ±0.99	7.1
A2 Colmax®	9.04 ±0.99	9.43 ±0.58	8.42 ±1.24	10.7
B1 Nufloor®	10.35 ±1.08	11.02 ±0.67	9.26 ±0.55	16.0
B2 Nufloor®	9.17 ±1.29	9.94 ±0.58	7.94 ±1.16	20.1
C1 Nutricol®	8.46 ±1.51	9.36 ±0.97	7.02 ±1.08	25.0
C2 Nutricol®	9.20 ±0.72	9.48 ±0.50	8.76 ±0.84	8.0

7.2. Etapa 3. Cuantificación del consumo de agua medicada

En el cuadro 12 se presentan los promedios de los consumos de cada corral (ml/kg/h) sin medicar y medicados, así como los diferenciales entre estas dos variables. En todos los corrales hubo un diferencial negativo, es decir, el consumo de agua disminuyó con la medicación.

Las medias aritméticas para el consumo de agua sin medicar y medicada con distintas dosis de florfenicol, el coeficiente de correlación de estas variables y la temperatura ambiente promedio se presentan en las figuras 3 a 14, respectivamente.

Cuadro 13. Estadística descriptiva para aumento de peso por corral, sin y con medicina

Tratamiento	Días de tratamiento	Promedio	Desviación estándar
A1 Colmax®	8	10.75	0.782
A1 Colmax® M	5	9.99	0.993
A2 Colmax®	8	9.43	0.584
A2 Colmax® M	5	8.42	1.235
B1 Nuflor®	8	11.02	0.671
B1 Nuflor® M	5	9.26	0.554
B2 Nuflor®	8	9.93	0.584
B2 Nuflor® M	5	7.94	1.156
C1 Nutricol®	8	9.36	0.927
C1 Nutricol® M	5	7.02	1.077
C2 Nutricol®	8	9.48	0.504
C2 Nutricol® M	5	8.76	0.843

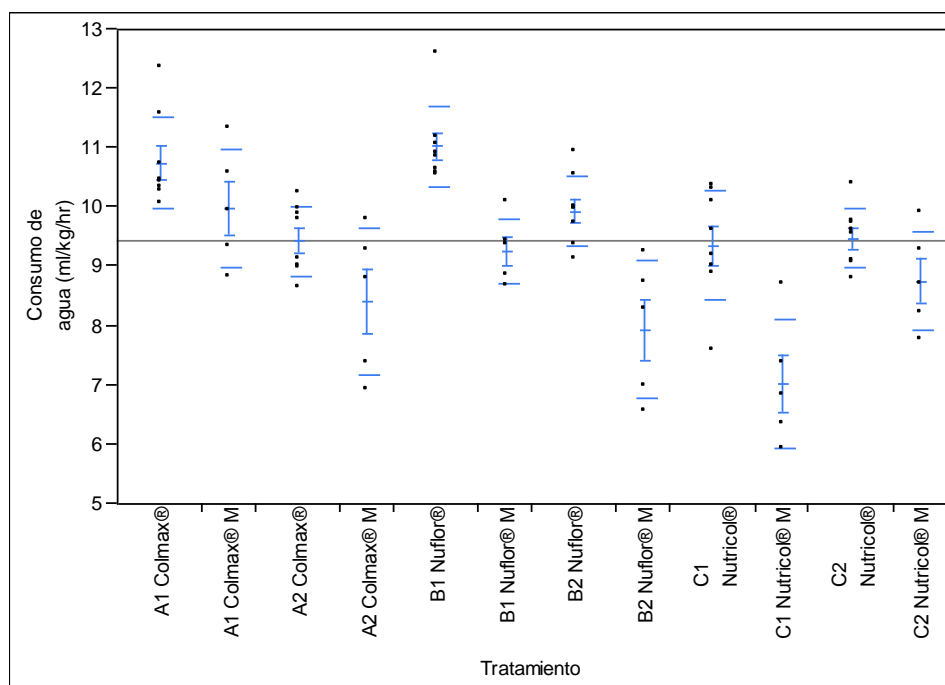


Figura 2. Gráfica con estadística descriptiva para consumo de agua por corral, sin y con medicina.

Gráficas de regresión lineal simple entre consumo de agua y temperatura ambiental para cada tratamiento, antes (izquierda, números nones) y después de la medicación (derecha, números pares).

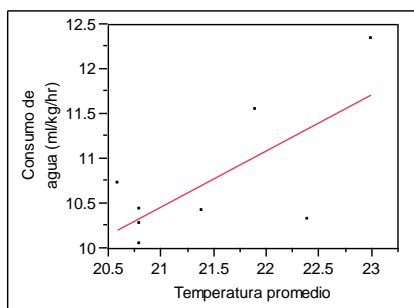


Figura 3. Regresión para A1 Colmax®.

$$R^2 = 0.496736$$

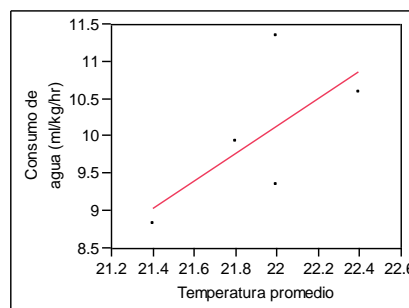


Figura 4. Regresión para A1 Colmax® M.

$$R^2 = 0.437226$$

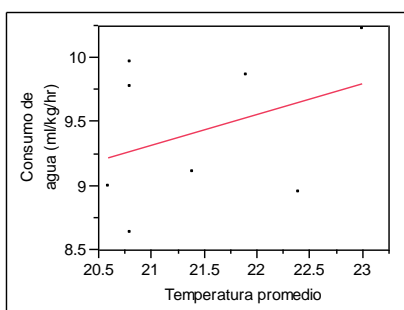


Figura 5. Regresión para A2 Colmax®.

$$R^2 = 0.129005$$

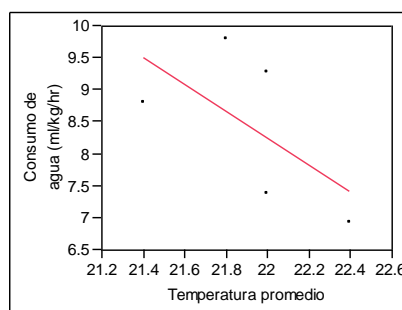


Figura 6. Regresión para A2 Colmax® M.

$$R^2 = 0.373228$$

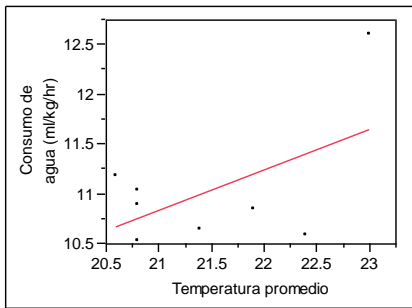


Figura 7. Regresión para B1 Nuflor®.

$$R^2 = 0.287431$$

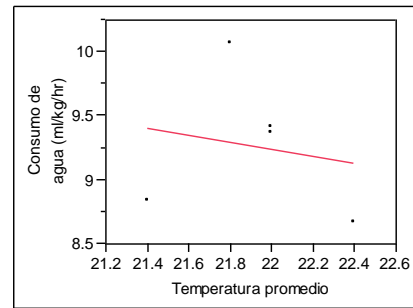


Figura 8. Regresión para B1 Nuflor® M.

$$R^2 = 0.031097$$

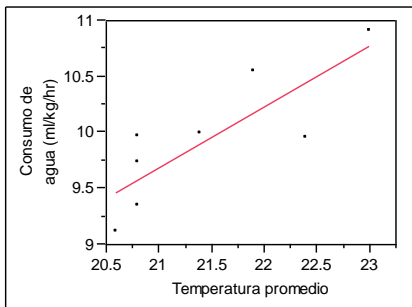


Figura 9. Regresión para B2 Nuflor®.

$$R^2 = 0.681887$$

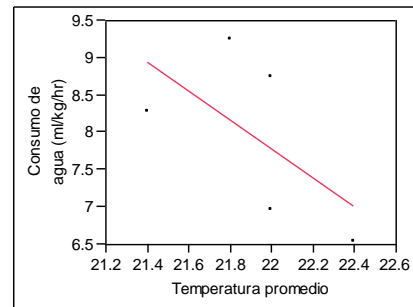


Figura 10. Regresión para B2 Nuflor® M.

$$R^2 = 0.369396$$

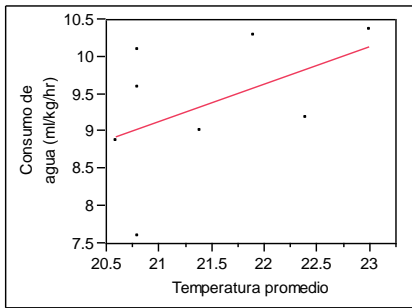


Figura 11. Regresión para C1 Nutricol®.

$$R^2 = 0.228599$$

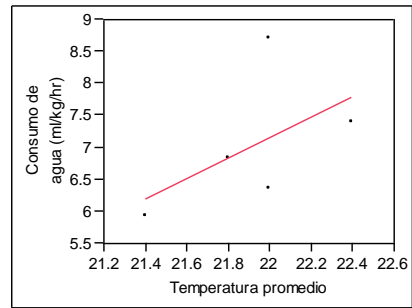


Figura 12. Regresión para C1 Nutricol® M.

$$R^2 = 0.290332$$

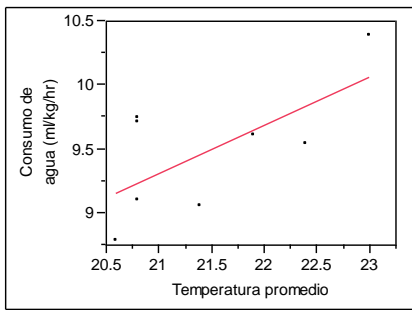


Figura 13. Regresión para C2 Nutricol®.

$$R^2 = 0.43509$$

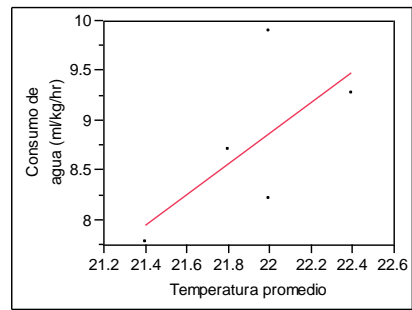


Figura 14. Regresión para C2 Nutricol® M.

$$R^2 = 0.438844$$

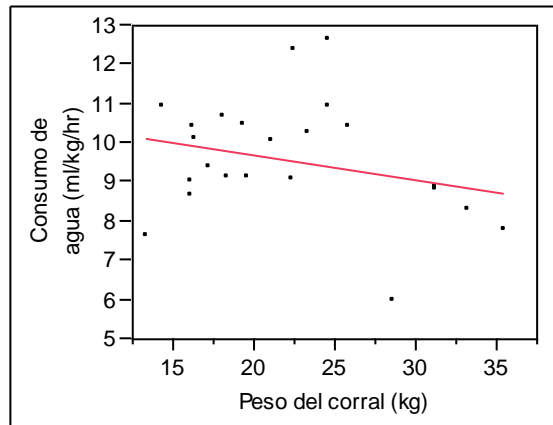


Figura 15. Regresión lineal simple entre consumo de agua y aumento de peso por día, para todos los días de tratamiento. $R^2=0.075674$.

7.3. Etapa 4 y 5. Obtención de muestras de sangre y determinación de concentración sérica de florfenicol

El análisis microbiológico de Bennet, no reveló halos de inhibición medibles en ninguno de los sueros obtenidos.

8. Discusión

Este trabajo es un estudio exploratorio de la importancia del consumo de agua y la palatabilidad de los antibacterianos proporcionados en el agua de bebida para cerdos en etapa de destete y su relación con las dosis terapéuticas, bajo condiciones reales de una granja en producción.

El proyecto dio inicio con cerdos de 36 días de edad promedio, mismos que fueron pesados, y los tratamientos y corrales fueron aleatorizados. A partir de ese momento comenzó la etapa de adaptación (5 días). Al 6° día se dio inicio a la fase experimental, con la medición del consumo de agua; pero 2 días después, algunos de los animales presentaron trastornos gastrointestinales, suspendiéndose el estudio, que se reinició varios días después. Es por esto que al iniciar este estudio los cerdos contaban con 47 días de edad, quedando sólo 24 animales disponibles, mismos que nuevamente se pesaron y aleatorizaron en los tratamientos y corrales. Se inició la medición del consumo de agua aparente, terminando los 10 días cuando los cerdos tenían 57 días de edad. Es por esto que cuando se realizó la estadística descriptiva para analizar el consumo de agua se eliminaron los dos primeros días de la base de datos, pues el consumo de agua se encontraba disminuido por la relotificación y la jerarquización. Debido a las limitaciones de la disponibilidad de cerdos que cumplieran los criterios de inclusión para este experimento y las instalaciones no fue posible disponer de suficiente evidencia experimental. Sin embargo, la falta de estudios similares en la literatura enfatiza la importancia de este trabajo como el inicio de futuras investigaciones en áreas y temas afines.

El consumo promedio de agua en ml/Kg/h se muestra en el cuadro 3. Según diversos autores, los consumos de agua en la etapa de destete son de 1-5 L / día (Nienaber y Hahn, 1984; Zdzislaw *et al.*, 1995; Almond, sin fecha). En este estudio bajo las condiciones de la granja experimental, los consumos antes del tratamiento se encontraron entre 5.5 – 5.7 L/ día, lo que coincide con lo mencionado en la literatura.

Entre los factores que influyen en la cantidad de veces que los cerdos acuden al bebedero se encuentran: las características del alojamiento, la temperatura ambiental, el tipo de bebedero, la ubicación del bebedero y el peso de los cerdos, entre otros. Es un hecho que es complicado medir el consumo de agua, por lo que es más apropiado designarlo como gasto de agua. Se llega a mencionar que el desperdicio de agua de bebida de un bebedero de chupón llega a ser hasta de 60%. En este estudio los bebederos de chupón que se utilizaron permitieron controlar mejor la cantidad que ingresaba, ya que los tinacos se rellenaban manualmente según fuera disminuyendo su nivel. Es por esto que se consideró solo el 25% de desperdicio y no el 60%. Además, a medida que los cerdos fueron creciendo, el chupón resultó ser cada vez más pequeño para ellos, comparado con el que se utiliza comercialmente en esta etapa.

En este estudio la temperatura ambiental promedio registrada fue de 21.64° C \pm 0.75, dentro de la zona de termoneutralidad de los cerdos. Como se muestra en las Figs. 3 a 14, en cada tratamiento se observa que la temperatura es la misma en la nave, sin embargo, una vez que es aplicado el florfenicol los consumos varían. La temperatura tuvo una relación directa con el comportamiento del consumo de agua en todos los grupos a lo largo de los 10 días; sin embargo, esa relación se perdió al comenzar la dosificación con florfenicol en el día 11 (Figs. 3 y 4). Asimismo, en el consumo de agua, se observa respuesta al sabor cuando se agrega el florfenicol, el cambio menos notable corresponde al tratamiento A1 Colmax®, mientras que el tratamiento B2 Nuflor® es notable la disminución del consumo, por lo que se asume fue menos palatable

Tal como se observa en el cuadro 16, los tratamientos A1, C1 y C2 no tuvieron diferencias en la R² entre consumo de agua normal y medicada. La temperatura ambiental ejerció un efecto similar en ellos y la medicación con florfenicol no modificó el consumo de agua. Por alguna razón, la temperatura ambiente influyó más en el consumo de agua en los tratamientos A1 y C2 que en el C1. La relación entre temperatura ambiente y consumo de agua fue negativa en A2 medicado, con una

R² mayor que en A2 sin medicar; podría concluirse que la adición de este producto al agua afectó su consumo. La relación entre temperatura ambiente y consumo de agua fue negativa en los tratamientos B. En B1 casi se pierde la relación entre las variables (la R² fue muy pobre), pero en B2 la relación negativa fue más marcada. Esto podría significar que el producto comercial afectó negativamente la palatabilidad del agua y la dosis alta tuvo mayor efecto que la dosis baja. El grupo B2 sin medicar presentó mejor relación entre la temperatura ambiente y el consumo de agua.

Cuadro 15. R² entre consumo de agua y temperatura ambiente

Tratamiento	Sin medicar	Medicado
A1	0.497	0.437
A2	0.129	0.373*
B1	0.287	0.031*
B2	0.682	0.369*
C1	0.229	0.290
C2	0.435	0.439

* La asociación fue negativa.

Al utilizar un análisis de regresión lineal simple entre consumo de agua y temperatura ambiental para cada tratamiento sin mediación se observó que en todos los casos la correlación lineal fue positiva, lo que indica que el consumo de agua se incrementó en todos los grupos conforme la temperatura aumentó. Sin embargo, cuando se inició con la medicación en el agua, dos de los tratamientos, C2 Nutricol® y A2 Colmax®, presentaron una correlación lineal negativa de 37%, que no puede ser explicada por el aumento en la temperatura, por lo que tal disminución seguramente se asoció a la presencia del preparado de florfenicol en el agua de bebida (Fig. 3 a 14).

Para todos los tratamientos el último día de consumo basal de agua se tomó como referencia para hacer las comparaciones pertinentes con relación al primer día de la fase del consumo de agua con florfenicol. En el primer día con agua medicada se

observó, en general, una disminución en el consumo, tal y como se muestra en la Figura 2 y cuadro 12, donde se refleja una disminución de entre 7 y 20% en el consumo. Esto demuestra que la disminución en el consumo de agua estuvo directamente relacionada con el cambio de sabor por efecto de los tres diferentes preparados de florfenicol.

En comparación con la ganancia de peso reportada por Brumm (2006) de 559 g - 613 g/ día para cerdos de entre 20 y 30 kilos de peso, los cerdos en este estudio tuvieron una ganancia de peso de aproximadamente 900 g/día, como se observa en la Fig. 15, en la que se detalla el peso promedio por tratamiento durante los 15 días del estudio. La figura muestra que a mayor peso, mayor fue el consumo de agua. Sin embargo, en el cuadro 14 de consumo de agua se aprecia que los promedios de consumo en los tratamientos con agua medicada disminuyeron, independientemente de los días que transcurrieron y de la ganancia de peso.

Por otro lado los parámetros farmacocinéticos reportados señalados en el cuadro 6 se obtuvieron utilizando una sola dosis en bolo PO, lo cual garantiza que la dosis total de florfenicol se deposita en el estómago y posteriormente es absorbida. Asimismo, la evaluación de los sueros se realizó por el método de HPLC, el cual detecta metabolitos inactivos del florfenicol.

Debido a que el florfenicol es un fármaco tiempo- dependiente las concentraciones séricas deben estar por lo menos dos veces por arriba del valor de las CMI de los principales agentes patógenos, en el 75% del intervalo de dosificación, lo cual no se alcanzó en el presente estudio pues la ingesta del florfenicol a concentraciones de 11.83 y 33.24 mg/kg en el agua de bebida por 5 días no permitió que el florfenicol llegara de manera rápida en el tiempo y la concentración que otros autores reportan, pues las variables de consumo de agua por tratamiento y el peso de los cerdos ocasionaron que la dosis inicial se redujera. Por otro lado, el método utilizado para detectar el florfenicol en el suero y obtener los parámetros farmacocinéticos fue el estudio microbiológico de Bennet (1966), el cual detecta sólo el florfenicol activo, y tiene un límite de sensibilidad es de 2 µg/mL. Debido a que la vía

de administración de florfenicol en este estudio fue a través del agua de bebida, cuyo consumo se vio disminuido por los motivos arriba señalados, el método de Bennet no sirvió para encontrar valores de florfenicol detectables en el plasma. Desafortunadamente casi no hay información en la literatura técnica en relación a la medicación oral a través del agua de bebida que hagan referencia al consumo de la misma con relación a la palatabilidad de los medicamentos y su posterior detección en el plasma en condiciones reales de las granjas.

9. Conclusiones

Las presentaciones de florfenicol utilizadas en este estudio afectaron negativamente la palatabilidad del agua, siendo los productos menos palatables A y C, especialmente cuando la dosis se triplicó.

El efecto en la palatabilidad condujo a una disminución en el consumo de agua por parte de los cerdos, lo cual ocasionó una subdosificación del florfenicol.

La palatabilidad de los antibacterianos debería ser más alta, ya que en este estudio se observó que la palatabilidad influye de manera importante en el consumo de agua, lo cual repercutió en la subdosificación del florfenicol.

Con las dosis que sugieren los productos comerciales en la etiqueta no se alcanza la CMI, estas subdosificaciones terminarán por inhabilitar un antibacteriano aun muy valioso en la clínica.

Consideramos necesario realizar pruebas de eficacia con animales afectados por los patógenos que afectan las vías respiratorias en los cerdos a través de agua medicada en las condiciones experimentales de este trabajo y utilizar como método de detección HPLC

10.Recomendaciones

Es necesario realizar estudios de consumo de los antibacterianos en condiciones normales de granja, para que con las dosis recomendadas por los laboratorios, independientemente del manejo y etapa en la que se utilicen, realmente se alcancen dosis terapéuticas, para así disminuir o aminorar los problemas de resistencia bacteriana, con sus consecuencias en la salud pública, tan comunes en nuestro país.

11. Literatura citada

- Aarestrup, F.M., Agerso, Y., Gerner-Smidt, P., Madsen, M., Jensen, L.B., 2000. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. *Diagn Microbiol Infect Dis* 37, 127-137.
- Aarestrup, F.M., Hasman, H., Jensen, L.B., Moreno, M., Herrero, I.A., Dominguez, L., Finn, M., Franklin, A., 2002. Antimicrobial resistance among enterococci from pigs in three European countries. *Appl Environ Microbiol* 68, 4127-4129.
- Aarestrup, F.M., Oliver Duran, C., Burch, D.G., 2008. Antimicrobial resistance in swine production. *Anim Health Res Rev* 9, 135-148.
- Agersø, H., Friis, C., Haugegaard, J., 1998. Water medication of a swine herd with amoxicillin. *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics* 21, 199-202.
- Alali, W.Q., Scott, H.M., Harvey, R.B., Norby, B., Lawhorn, D.B., Pillai, S.D., 2008. Longitudinal study of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* isolates from integrated multisite cohorts of humans and swine. *Appl Environ Microbiol* 74, 3672-3681.
- Almond, G.W., n.d. How much water do pigs need? North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Almond, G.W., sin fecha. How much water do pigs need? North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Aquino, M.H., Filgueiras, A.L., Ferreira, M.C., Oliveira, S.S., Bastos, M.C., Tibana, A., 2002. Antimicrobial resistance and plasmid profiles of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from human and animal sources. *Letf Appl Microbiol* 34, 149-153.
- Baumgartner, A., Kuffer, M., Suter, D., Jemmi, T., Rohner, P., 2007. Antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* strains from human patients, pigs and retail pork in Switzerland. *Int J Food Microbiol* 115, 110-114.
- Bennett, J.V., Brodie, J.L., Benner, E.J., Kirby, W.M.M., 1966. Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. *Applied Microbiology* 14, 170-177.
- Brander, G.C., Pugh, D.M., Bywater, R.J., 1982. *Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics*.

- Brooks, P., Carpenter, J., 1990. The water requirement of growing-finishing pigs: Theoretical and practical considerations, Butterworths, Boston.
- Brumm, M., 2006. Swine Report. Universidad de Nebraska, pp. 10-13.
- Carr, J., 1994. Ellanco technical bulletin.
- Catry, B., Duchateau, L., Van de Ven, J., Laevens, H., Opsomer, G., Haesebrouck, F., De Kruif, A., 2008. Efficacy of metaphylactic florfenicol therapy during natural outbreaks of bovine respiratory disease. *J Vet Pharmacol Ther* 31, 479-487.
- Chamorro, C.A., de Paz, P., Fernández, J.G., Anel, L., 1993. Fungiform papillae of the pig and the wild board analisys by scanning electron microscopy. *Scan Microsc.* 7, 313-322.
- Delsol, A.A., Randall, L., Cooles, S., Woodward, M.J., Sunderland, J., Roe, J.M., 2005. Effect of the growth promoter avilamycin on emergence and persistence of antimicrobial resistance in enteric bacteria in the pig. *J Appl Microbiol* 98, 564-571.
- Donham, K.J., 1991. Association of environmental air contaminants with diseases and productivity in swine. *Am J Vet Res* 52, 1723-1730.
- FAO, 2000. Codex Alimentarius.Requisitos generales. Food & Agriculture Organization.
- Flori, J., Mousing, J., Gardner, I.A., Willeberg, P., Have, P., 1995. Risk factors associated with seropositivity to porcine respiratory coronavirus in Danish swine herds. *Prev Vet Med* 25, 51-62.
- Fontanillas, R., Roura, E., n.d. Palatabilidad y consumo alimentario en el cerdo: de la percepción sensorial a las mejoras productivas. *Lucta*, 1-15.
- Foster, T., 2008. Veterinary dosage forms: Formulation development and performance testing, USP annual scientific meeting. United States Pharmacopeia, Kansas City, Missouri.
- Frana, T.S., Carlson, S.A., Rauser, D.C., Jones, B.D., Fergen, B.J., Griffith, R.W., 2004. Effects of microcin 24-producing *Escherichia coli* on shedding and multiple-antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* serotype typhimurium in pigs. *Am J Vet Res* 65, 1616-1620.

- Gallay, A., Prouzet-Mauleon, V., Kempf, I., Lehours, P., Labadi, L., Camou, C., Denis, M., de Valk, H., Desenclos, J.C., Megraud, F., 2007. Campylobacter antimicrobial drug resistance among humans, broiler chickens, and pigs, France. *Emerg Infect Dis* 13, 259-266.
- Goatcher, W.D., Curch, D.C., sin fecha. Review of some nutritional aspects of the sense of taste. Oregon State University, Corvallis.
- Hayes, J.M., Eichman, J., Katz, T., Gilewicz, R., 2003. Stability of florfenicol in drinking water. *J AOAC Int* 86, 22-29.
- Hayes, J.M., Gilewicz, R., Freehauf, K., Fetter, M., 2009. Assay of florfenicol in swine feed: interlaboratory study. *J AOAC Int* 92, 340-347.
- Hendriksen, R.S., Mevius, D.J., Schroeter, A., Teale, C., Jouy, E., Butaye, P., Franco, A., Utinane, A., Amado, A., Moreno, M., Greko, C., Stark, K.D., Berghold, C., Myllyniemi, A.L., Hoszowski, A., Sunde, M., Aarestrup, F.M., 2008. Occurrence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens and indicator bacteria in pigs in different European countries from year 2002 - 2004: the ARBAO-II study. *Acta Vet Scand* 50, 19.
- Herradora, L.M., Martinez-Gamba, R., 2003. Effect of oral enrofloxacin and florfenicol on pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 50, 259-263.
- Jawetz, E., Brooks, G.F., Melnick, J.L., Butel, J.S., Morse, S.A., 2002. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. El Manual Moderno, México.
- Jiang, H.X., Zeng, Z.L., Chen, Z.L., Liu, J.J., Fung, K.F., 2006. Pharmacokinetics of florfenicol in pigs following intravenous, intramuscular or oral administration and the effects of feed intake on oral dosing. *J Vet Pharmacol Ther* 29, 153-156.
- Jorsal, S.E., Thomsen, B.L., 1988. A cox regression analysis of risk factors related to *Mycoplasma suis* pneumoniae reinfection in Danish spf-herds. *Acta Vet Scand (suppl)* 84, 436-437.
- Kadlec, K., Ehricht, R., Monecke, S., Steinacker, U., Kaspar, H., Mankertz, J., Schwarz, S., 2009. Diversity of antimicrobial resistance pheno- and genotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from diseased swine. *J Antimicrob Chemother* 64, 1156-1164.

- Kasiakou, S.K., Lawrence, K.R., Choulis, N., Falagas, M.E., 2005. Continuous versus Intermittent Intravenous Administration of Antibacterials with Time-Dependent Action: A Systematic Review of Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Parameters. *Drugs* 65, 2499-2511.
- Kijima-Tanaka, M., Ishihara, K., Morioka, A., Kojima, A., Ohzono, T., Ogikubo, K., Takahashi, T., Tamura, Y., 2003. A national surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from food-producing animals in Japan. *J Antimicrob Chemother* 51, 447-451.
- Leibbrandt, V.D., Johnston, L.J., Shurson, G.C., D., C.J., Libal, G.W., Arthur, R.D., 2001. Effect of nipple drinker water flow rate and season on performance of lactating swine. *Journal of Animal Science* 79, 2770-2775.
- Li, J.Z., Fung, K.F., Chen, Z.L., Zeng, Z.L., Zhang, J., 2002. Tissue pharmacokinetics of florfenicol in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 27, 265-271.
- Liu, J., Fung, K.F., Chen, Z., Zeng, Z., Zhang, J., 2003. Pharmacokinetics of florfenicol in healthy pigs and in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 47, 820-823.
- Nagai, M., Hachimura, K., Takashi, K., 1994. Water consumption in suckling pigs. *Journal of Veterinary Medicine Science* 56, 181-183.
- National Research Council, 1988. Nutrient requirements of swine. National Academic Press, Washington, DC.
- Nienaber, J.A., Hahn, G.L., 1984. Effects of water flow restriction and environmental factors on performance of nursery-age pigs. *J. Anim Sci.* 59, 1423-1429.
- Padungton, P., Kaneene, J.B., 2003. *Campylobacter* spp in human, chickens, pigs and their antimicrobial resistance. *J Vet Med Sci* 65, 161-170.
- Paige, J.C., Tollefson, L., Miller, M.A., 1999. Health implications of residues of veterinary drugs and chemicals in animal tissues. *Vet. Clin. North. Am. Food Practice* 15, 31-43.
- Parfet, R.K.A., Gonyuo, H.W., 1991. Attraction of new born piglets to auditory, visual, olfactory, and tactile stimuli. *Journal of Animal Science* 69, 125-133.

- Park, B.K., Lim, J.H., Kim, M.S., Hwang, Y.H., Yun, H.I., 2008. Pharmacokinetics of florfenicol and its metabolite, florfenicol amine, in dogs. *Res Vet Sci* 84, 85-89.
- Pijpers, A., 1992. The influence of diseases on feed and water consumption and on pharmacokinetics of orally administered oxytetracycline in pigs. University of Utrecht, The Netherlands.
- Priebe, S., Schwarz, S., 2003. In vitro activities of florfenicol against bovine and porcine respiratory tract pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 47, 2703-2705.
- Quiles, A., Hevia, M., 2006. Suministro de agua. Universidad de Murcia, España, pp. 1-5.
- Rooney, K.A., Nutsch, R.G., Skogerboe, T.L., Weigel, D.J., Gajewski, K., Kilgore, W.R., 2005. Efficacy of tulathromycin compared with filmicosin and florfenicol for the control of respiratory disease in cattle at high risk of developing bovine respiratory disease. *Vet Ther* 6, 154-166.
- Rosengren, L.B., Waldner, C.L., Reid-Smith, R.J., Dowling, P.M., Harding, J.C., 2007. Associations between feed and water antimicrobial use in farrow-to-finish swine herds and antimicrobial resistance of fecal *Escherichia coli* from grow-finish pigs. *Microb Drug Resist* 13, 261-269.
- Russell, I.D., 1992. Water medication with good water systems. *Poultry Digest* 40.
- SAS, 2007. JMP. SAS Institute Inc.
- Schiffman, S.S., Zervakis, J., Westall, H.L., Graham, B.G., Metz, A., Bennett, J.L., Heald, A.E., 2000. Effect of antimicrobial and anti-inflammatory medications on the sense of taste. *Physiol Behav* 69, 413-424.
- Schwarz, S., Kehrenberg, C., Doublet, B., Cloeckaert, A., 2004. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiology Reviews* 28, 519-542.
- Shin, S.J., Kang, S.G., Nabin, R., Kang, M.L., Yoo, H.S., 2005. Evaluation of the antimicrobial activity of florfenicol against bacteria isolated from bovine and porcine respiratory disease. *Veterinary Microbiology* 106, 73-77.
- Straw, B.E., Taylor, D.J., 2006. Diseases of swine. Wiley-Blackwell, EU.

- Sumano, L.H., Caballero, C.H.S., 1997. Influencia de los antimicrobianos sobre la respuesta inmune, XXXII Congreso Nacional de las Asociaciones Mexicanas de Medicina Veterinaria Especializada Española en Cerdos, Ixtapa Zihuatanejo, Guerrero, México.
- Sumano, L.H., Negrón, G.G., Fernández, S.G., 2000. Consideraciones prácticas y farmacológicas para la medicación de antibacterianos en avicultura. Una revisión. *Revista Científica, FCV-LUZ X*, 251-266.
- Tang, X., Zhao, Z., Hu, J., Wu, B., Cai, X., He, Q., Chen, H., 2009. Isolation, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in China. *J Clin Microbiol* 47, 951-958.
- Torrey, S., Widowski, T.M., 2006. A note on piglets preferences for drinker types at two weaning ages. *Applied Animal Behavior Science* 100, 333-341.
- Ueda, Y., Ohtsuki, S., Narukawa, N., 1995. Efficacy of florfenicol on experimental *Actinobacillus pleuropneumonia* in pigs. *J Vet Med Sci* 57, 261-265.
- Voorspoels, J., D'Haese, E., De Craene, B.A., Vervaeet, C., De Riemaeker, D., Deprez, P., Nelis, H., Remon, J.P., 1999. Pharmacokinetics of florfenicol after treatment of pigs with single oral or intramuscular doses or with medicated feed for three days. *Vet Rec* 145, 397-399.
- Wallgren, P., Segall, T., Pedersen Morner, A., Gunnarsson, A., 1999. Experimental infections with *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs--II. Comparison of antibiotics for oral strategic treatment. *Zentralbl Veterinarmed B* 46, 261-269.
- Wallmann, J., 2006. Monitoring of antimicrobial resistance in pathogenic bacteria from livestock animals. *Int J Med Microbiol* 296 Suppl 41, 81-86.
- Zdzislaw, M., Jongbloed, A.W., Lenis, N.P., Vreman, K., 1995. Water in pig nutrition: Physiology, allowances and environmental implications. *Nutrition Research Reviews* 8, 137-164.

Resumen

La administración de subdosis en las granjas porcinas contribuye a la formación de resistencia bacteriana contra antibacterianos. Se comparó la diferencia en la palatabilidad de florfenicol a dos diferentes dosis, utilizando varios tipos comerciales de florfenicol. Se midió el consumo de agua medicada, y la dosificación real no detectada a partir del plasma de los cerdos por medio del estudio microbiológico de Bennett. El consumo promedio de agua antes del tratamiento fue de 5.5 – 5.7 L/día. La temperatura tuvo una relación lineal positiva con el comportamiento del consumo de agua en todos los grupos durante la etapa de medición basal, dicha relación se perdió al comenzar la dosificación con florfenicol en el día 11. Se observó respuesta al sabor, analizando el consumo de agua, al agregar florfenicol. El cambio menos notable correspondió al tratamiento A1 Colmax®, mientras que para el tratamiento B2 Nufloor® fue menos notable la disminución en el consumo. Los tratamientos A1, C1 y C2 no presentaron diferencias entre consumo de agua sin medicación y medicada. La temperatura ambiente influyó el consumo de agua en los tratamientos A1 y C2. La relación entre temperatura ambiente y consumo de agua fue negativa en A2 medicado, con una R^2 mayor que en A2 sin medicar. En B1 la R^2 fue pobre, y en B2 la relación negativa fue más marcada. El grupo B2 sin medicar presentó mejor relación entre temperatura ambiente y consumo de agua. En el análisis de regresión lineal simple entre consumo de agua y temperatura ambiental para cada tratamiento sin mediación se observó que en todos los casos la correlación lineal fue positiva, cuando se inició con la medicación en el agua, dos de los tratamientos, C2 Nutricol® y A2 Colmax®, presentaron correlación lineal negativa de 37%. Las presentaciones de florfenicol utilizadas afectaron negativamente la palatabilidad del agua, siendo los productos menos palatables A y C, especialmente cuando la dosis se triplicó.

El efecto en la palatabilidad condujo a una disminución en el consumo de agua por parte de los cerdos, lo cual ocasionó una subdosificación del florfenicol.

Abstract

Low-dose antibacterial agents given in pig farms contribute on formation of bacterial resistance. We compared palatability of different brands of florfenicol at two doses and determined the influence of taste on the consumption of medicated water and try to detect florfenicol metabolites on plasma of treated pigs using Bennett's microbiology. Before start treatment, average water consumption was 5.5 - 5.7 L/day. Rise on temperature present positive lineal correlation on water intake in all treatments during measure of basal intake stage, but this relationship was lost when water was added with florfenicol. It was observed a decrease on water intake when florfenicol was added. The less noticeable change was for A1Colmax ® treatment, while treatment B2 Nuflor® almost not report reduces on consumption. Treatments A1, C1 and C2 did not present intake differences between non medicated water and medicated one. Temperature influences water intake on treatments A1 and C2. Relationship between temperature and water intake was negative in medicated A2, with a greater R^2 than A2 without florfenicol. R^2 was poor for B1, and for B2 negative relationship was more obvious. Not medicated B2 treatment showed better temperature/water consumption relationship. A simple linear regression analysis using water consumption and environmental temperature for each not medicated treatment present, in all cases, a positive linear correlation; but when medication started two of the treatments, C2 Nutricol ® and A2 Colmax ®, showed negative linear correlation of 37%. Florfenicol brands used affected unfavorably palatability of water, being it less palatable, especially on A and C treatments when dose was triplicate.

Effect on the palatability lead on pigs a lessen water intake, which resulted on florfenicol low-dosage.

1. Introducción

La producción porcina en países industrializados y del tercer mundo ha cambiado en los últimos años; esto ha generado que grandes grupos de animales se alojen bajo condiciones intensivas, con poblaciones de cerdos muy densas, lo que aumenta la incidencia y facilita el contagio de trastornos respiratorios y enfermedades sistémicas de transmisión aérea dentro de la pira (Donham, 1991) y entre piras (Jorsal y Thomsen, 1988; Flori *et al.*, 1995). *Actinobacillus pleuroneumoniae* y *Mycoplasma hyopneumoniae* se asocian comúnmente con cuadros subclínicos de enfermedades y su presencia constante, aunada a otros patógenos considerados como flora normal, agentes virales, efectos ambientales y manejo inapropiado de la medicina preventiva de la pira ocasionan enfermedades (Nienaber y Hahn, 1984; Sumano y Caballero, 1997; Paige *et al.*, 1999), que van a generar una elevada mortalidad, deficiente ganancia de peso, mala conversión alimenticia, aumento en el número de días en que los cerdos llegan a rastro, excesivo gasto por medicamentos y altos decomisos en rastros (Paige *et al.*, 1999; Wallmann, 2006). Todo esto se va a ver reflejado en pérdidas económicas.

En México, las neumonías representan la principal causa de muerte en cerdos, y el uso indiscriminado de antibacterianos ha fomentado la aparición de cepas bacterianas resistentes. La resistencia bacteriana causada por el recurrente mal uso de antibióticos, particularmente como recurso en la llamada metafilaxia o profilaxis estratégica, facilita el establecimiento y prevalencia de las enfermedades respiratorias (Schwarz *et al.*, 2004; Alali *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2009).

Debido a la infraestructura de las granjas porcinas, existen tres estrategias importantes para evitar o disminuir las enfermedades respiratorias. Estas estrategias dependerán de la región donde se localicen y el tipo de granja y son:

- Bioseguridad, control de instalaciones, flujo interno y externo de la granja.
- Medicina preventiva contra antígenos específicos, uso de vacunas y bacterinas.
- Farmacoterapia con antibióticos premezclados en el alimento o el agua de bebida (Agersø *et al.*, 1998; Hayes *et al.*, 2009).

Algunos de los antibióticos comúnmente utilizados en la medicina preventiva y en la terapéutica contra agentes bacterianos involucrados en patologías del sistema respiratorio de porcinos como *A. pleuropneumoniae*, administrados vía parenteral o en el alimento, son tetraciclinas, ampicilina, eritromicina, penicilina G, gentamicina, lincomicina, neomicina, estreptomina y tiamulina. Los antibióticos de uso recurrente en el agua de bebida son tianfenicol, enrofloxacin, fosfomicina, lincomicina, sulfas-trimeroprim y florfenicol (Wallgren *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2002; Rosengren *et al.*, 2007).

El registro del consumo de agua en las granjas porcinas para los medicamentos administrados en el agua de bebida es de suma importancia para garantizar que se alcancen dosis terapéuticas apropiadas y se optimicen las bondades de los antibacterianos, evitando la sub dosificación.

1.1. Consumo de agua

El agua cumple varias funciones dentro del organismo animal. Entre las más importantes podemos citar a la función estructural, al formar parte de los tejidos; también proporciona el medio para la movilización de nutrientes y productos de desecho, mantiene constante la temperatura corporal y el equilibrio ácido-base, lubrica las articulaciones y es el medio esencial donde tienen lugar las reacciones bioquímicas de los procesos digestivos y metabólicos (Nagai *et al.*, 1994).

En el cuadro 1 se presentan las concentraciones de agua en los tejidos muscular y graso del cerdo.

Cuadro 1. Porcentaje (%) de agua contenida en músculo y grasa del cerdo.

Tejido	Agua	Proteína	Lípidos	Minerales y carbohidratos	Total
Muscular	70	20	8	2	100
Graso	15	2	75	8	100

(Nagai *et al.*, 1994)

El agua que se obtiene de la humedad natural de los alimentos (4%) y aquella proveniente del metabolismo oxidativo de los nutrientes (o agua metabólica) proporciona de 16 al 19 % de las necesidades del animal, lo que podría no ser mucho si se compara con lo aportado por el agua de bebida, que cubre 77 a 80% de sus necesidades. A pesar de ello, los tres tipos de suministro de agua (agua de bebida, agua de los alimentos y agua metabólica) son necesarios para mantener un adecuado equilibrio fisiológico.

El mantenimiento del equilibrio hídrico es extremadamente importante, ya que pequeños cambios en el mismo pueden causar serios daños en la salud del cerdo, siendo los mecanismos internos de regulación de la sed y de la orina altamente sensibles.

Cincuenta y seis por ciento del agua se elimina por la orina, 30% por la respiración y 5% por las heces, reteniéndose 9% por necesidad de crecimiento (Zdzislaw *et al.*, 1995). En general los cerdos jóvenes necesitan más agua por kilogramo de peso vivo que los animales más viejos (Nienaber y Hahn, 1984).

Con un consumo *ad libitum* de agua, un cerdo en la fase de engorda consume de 2.2 a 2.8 litros de agua por kilo de materia seca ingerida, mientras que un lechón ingiere de 3 a 3.5 veces más agua que alimento (Almond, n.d). Es decir, para la 1ª semana post-destete la relación agua/alimento es de 4:1 mientras que para la 4ª semana es de 6:1 (Zdzislaw *et al.*, 1995).

En los cerdos, el consumo de agua tiene lugar aproximadamente entre las 7:30 y 16:30 horas (Agersø *et al.*, 1998) y está relacionado directamente con la temperatura ambiental y el consumo de alimento.

En cuanto a la temperatura, en condiciones de termoneutralidad, las necesidades de agua de bebida son de alrededor del 10% del peso vivo. Con el aumento de temperatura ambiental se incrementa el consumo, existiendo dos patrones de consumo en función de la temperatura ambiental (Nienaber y Hahn, 1984):

- Termoneutralidad, temperatura ambiental ≤ 27 °C: Empiezan a beber entre 5-6 am, alcanzando el pico al medio día y por la tarde se reduce el consumo hasta que anochece.
- Calor, temperatura ambiental ≥ 27 °C: Aparecen dos picos de consumo, entre 8-9 am y 5-8 pm. Al medio día y noche se produce una caída de consumo.

El requerimiento del vital líquido en la etapa del destete (7- 10 kg) es de 0.12 a 0.14 litros por kilo de peso vivo al día (Carr, 1994). Estas estimaciones no toman en cuenta el desperdicio, que se reporta en la literatura de 25 a 60%, especialmente en bebederos de chupón (Torrey y Widowski, 2006). En el cuadro 2 se muestran algunos factores que pueden incrementar la demanda de agua (Quiles y Hevia, 2006).

Cuadro 2. Factores que afectan el consumo *ad libitum* de agua en cerdos destetados

Incremento	Reducción
Estrés por calor	Estrés por frío
Hambre	Agua tibia o caliente
Aburrimiento	Agua muy salada
Dieta alta en proteínas	Enfermedades
Dieta alta en minerales	
Comida en pellets	

En la mayoría de las naves de transición, donde los cerdos se alimentan *ad libitum*, el consumo de agua permite predecir y controlar el crecimiento de los cerdos, de mejor manera que el consumo de alimento (Brooks y Carpenter, 1990). Mientras que la ingesta de alimento depende de la cantidad y de las características del comedero, el agua queda generalmente bajo el control directo de los cerdos, suponiendo que los bebederos se mantengan en buenas condiciones (Leibbrandt et al., 2001).

Para registrar el consumo de agua por etapa y/o nave se necesita un medidor instalado en la conducción de agua de bebida, el cual sólo incluya el agua destinada para los chupones o bebederos de la nave. En el cuadro 3 se detallan los requerimientos de agua para cada fase de producción, así como el caudal y la altura a la que deben colocarse los bebederos de chupón (Brumm, 2006).

Cuadro 3. Requerimientos mínimos de agua para cada fase de producción

Fase	Peso (Kg)	Consumo (L/día)	Caudal (ml/min)	Altura del piso al chupón (cm. 45°)	Altura del chupón (cm. 90°)
Gestación	-	Variable	1.5-1.0	90	70
Lactación	-	12-20	1.0-2.0	90	75
Lechones	-	Variable	0.5-0.7	15	10
Transición	5	1.0 -2.0	0.5-1.0	30	25
Transición	7	1.5 – 2.5	0.5-1.0	35	30
Engorda	15	2.5 – 3.0	0.5.1.0	45	35
Engorda	20	3 -4	0.5.1.0	50	40
Engorda	25	3-4	0.5.1.0	55	45
Engorda	50	5-7	0.5.1.0	65	55

(Brumm, 2006)

El registro de las lecturas del consumo diario de agua es importante así como el desarrollo de métodos para mostrar los valores totales diarios en gráficos, los cuales ayudan a evidenciar cambios en los consumos de agua (Brumm, 2006). La disminución del consumo de agua por tres días consecutivos o un descenso en el consumo de agua de 30 a 40% de un día para otro son indicadores del estado de salud, con repercusión directa en el crecimiento de los cerdos (Nagai *et al.*, 1994)

1.2. Terapéutica

El mayor control regulatorio sobre la distribución de fármacos y la documentación requerida para terapia son tendencias mundiales. Armonización es la palabra usada en el mundo para describir el esfuerzo hacia los estándares internacionales en la regulación de la terapia animal. El *Codex alimentarius*, publicado por la Organización Mundial de la Salud y la Organización de Alimento y Agricultura, está trabajando hacia la formulación de dichos estándares en la terapia internacional (Straw y Taylor, 2006).

Para el *Codex alimentarius*, una base de conocimientos de cuatro puntos y un proceso de razonamiento se vuelven necesarios en la decisión de la terapia a aplicar: 1) Conocimiento completo de la farmacología; 2) diagnóstico médico objetivo como base para la terapia; 3) familiaridad con la implementación de todas las regulaciones pertinentes, como también de los métodos sistematizados para la documentación de la terapia y 4) una apreciación de las ramificaciones económicas de la terapia (FAO, 2000).

1.3. Dosificación de antibacterianos en el agua de bebida

El consumo de agua en animales clínicamente enfermos y con enfermedades agudas disminuye considerablemente. A pesar de ello, sigue siendo la manera más viable de medicar estas poblaciones, ya que la terapia parenteral implica mayor inversión en tiempo, manejo y equipo, lo que incrementa los costos (Pijpers, 1992).

La elección y utilización de los fármacos adicionados al agua de bebida depende de la capacidad de éstos para disolverse y mantener su estabilidad y niveles terapéuticos. Los sistemas de bebederos y tuberías deben mantenerse limpios, protegidos de la luz y el calor ambiental, prefiriéndose las instalaciones plásticas o de PVC, ya que la herrumbre y las instalaciones galvanizadas disminuyen drásticamente la biodisponibilidad de algunos antibacterianos (Russell, 1992; Sumano y Caballero, 1997; Sumano *et al.*, 2000).

Existen cuatro puntos importantes que inciden directamente sobre una adecuada medicación de los antibióticos en el agua de bebida (Brander *et al.*, 1982):

1. Palatabilidad del producto
2. Disposición del agua
3. Inadecuada colocación de los bebederos
4. Calidad del agua

Algunas de las ventajas de la medicación en agua de bebida es que requiere poco manejo, el antibiótico se incorpora fácil y rápidamente dentro de las naves, permite la redosificación constante. Algunas de sus desventajas son que no se controlan el consumo, el desperdicio o la dosificación individual; el fármaco requiere tener un sabor agradable (palatabilidad) y se requieren adecuados sistemas de distribución y registro (Schiffman *et al.*, 2000; Hayes *et al.*, 2003).

1.4. Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana es una adaptación de los microorganismos a los nuevos productos con el fin de asegurar su persistencia a lo largo del tiempo (Straw y Taylor, 2006).

La resistencia *natural* o *intrínseca* es una propiedad específica de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos, como lo demuestra el aislamiento de bacterias resistentes a los antimicrobianos de una edad estimada de 2000 años encontradas en las profundidades de los glaciares de las regiones árticas de Canadá. Además, los microorganismos que producen antibióticos son por definición resistentes y eso les permite tener ventajas competitivas (Jawetz *et al.*, 2002).

La aparición de la resistencia adquirida en una bacteria se produce a través de mutaciones (cambios en la secuencia de bases de cromosoma) y por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias. En el primer caso, la resistencia se trasmite de forma vertical de generación en generación. En el segundo, la transferencia de genes se realiza horizontalmente, a través de plásmidos u otro material genético móvil como integrones y transposones; esto último no solo permite la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas (Jawetz *et al.*, 2002).

De esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con ellos (Jawetz *et al.*, 2002). Algunos de los mecanismos para desarrollar resistencia a los antibióticos son:

- Producción de enzimas que destruyen el fármaco activo
- Cambio en la permeabilidad hacia el antibacteriano
- Desarrollo de enzimas metabólicamente activas diferentes a las que inactiva el antibacteriano
- Modificación química del blanco sobre el que actúa el antibacteriano
- Desarrollo de vías metabólicas diferentes que pasan por alto la reacción inhibida por el fármaco

1.5. Origen de la resistencia a los fármacos

I. Resistencia de origen no genético a los antibacterianos

La mayor parte de los antibacterianos requieren de bacterias en replicación activa para mostrar sus acciones. Por consiguiente, los microorganismos metabólicamente inactivos (fuera de su estado de multiplicación) pueden ser fenotípicamente resistentes a los fármacos. Sin embargo, su descendencia es completamente susceptible. Estos microorganismos “persistentes” son resistentes al tratamiento y no pueden ser erradicados por los fármacos. No obstante si comienzan a multiplicarse (p. ej., en pacientes inmunosuprimidos) son totalmente susceptibles a los mismos fármacos (Aarestrup *et al.*, 2002; Aarestrup *et al.*, 2008).

II. Resistencia de origen genético a los fármacos

a) Resistencia cromosómica

La mayor parte de los microorganismos resistentes a los fármacos surgen como resultado de cambios genéticos y de los procesos subsecuentes de selección por los antimicrobianos. Esta resistencia se desarrolla como resultado de una mutación espontánea en un *locus* que controla la susceptibilidad a un antimicrobiano determinado. La presencia del antimicrobiano sirve como mecanismo de selección al suprimir los microorganismos susceptibles y favorecer el crecimiento de los mutantes

resistentes al fármaco. Comúnmente los mutantes cromosómicos son más resistentes en virtud de los cambios en un receptor estructural para el fármaco (Aarestrup *et al.*, 2000; Aarestrup *et al.*, 2002; Jawetz *et al.*, 2002).

b) Resistencia extracromosómica

Las bacterias casi siempre contienen elementos genéticos extracromosómicos denominados plásmidos. Algunos plásmidos llevan genes para la resistencia a uno y a menudo a varios fármacos antibacterianos. Los genes de plásmidos de resistencia antimicrobiana con frecuencia controlan la síntesis de enzimas capaces de destruir dichos fármacos. El material genético y los plásmidos se pueden transferir mediante transducción, transformación y conjugación (Kadlec *et al.*, 2009).

c) Resistencia cruzada

Los microorganismos resistentes a un determinado fármaco también lo pueden ser a otros fármacos que compartan un mismo mecanismo de acción. En algunos tipos de fármacos el núcleo activo de la sustancia química es tan similar (p. ej., tetraciclinas) que se puede esperar una amplia resistencia cruzada (Frana *et al.*, 2004).

III. Limitación de la resistencia a los fármacos

En toda infección, el surgimiento de la resistencia a los fármacos puede reducirse al mínimo de las siguientes maneras: 1) mantener concentraciones lo bastante grandes del fármaco en los tejidos como para inhibir a la población nativa y a la primera generación de mutantes; 2) administrar simultáneamente dos fármacos que no produzcan resistencia cruzada, para que cada uno retarde el surgimiento de cepas mutantes resistentes al otro fármaco (p. ej., rifampicina e isoniacida en el tratamiento de la tuberculosis) y 3) evitar la exposición de los microorganismos a un fármaco particularmente valioso, cuyo empleo debe limitarse a situaciones específicas (Wallmann, 2006).

IV. Implicaciones clínicas de la resistencia a los fármacos

Existen evidencias de géneros bacterianos que afectan a humanos que han creado resistencia a diversos antibióticos, tales como: gonococos resistentes a la espectinomicina y algunas quinolonas; meningococos resistentes a las sulfonamidas y rifampicina; estafilococos resistentes a penicilina, tetraciclinas y vancomicina; neumococos resistentes a penicilina G, trimetoprim-sulfametoxazol, eritromicina y tetraciclinas, bacterias entéricas gramnegativas resistentes a tetraciclinas (incorporadas en los alimentos para animales). En EUA el empleo continuo de complementos de tetraciclinas en los alimentos de animales quizá contribuya a la propagación de plásmidos de resistencia y de *Salmonelas* resistentes a los fármacos, en medicina veterinaria (Aquino *et al.*, 2002). Algunos investigadores reportan en aves (Gallay *et al.*, 2007), cerdos en diferentes etapas de crecimiento (Baumgartner *et al.*, 2007; Hendriksen *et al.*, 2008) y trabajadores de las mismas granjas (Padungton y Kaneene, 2003) cepas de bacterias resistentes a antibióticos.

V. Actividad antimicrobiana *in vitro*

La actividad antimicrobiana se cuantifica *in vitro* para determinar 1) la potencia de un antibacteriano en solución; 2) su concentración en líquidos y/o tejidos del cuerpo, y 3) la susceptibilidad de un microorganismo determinado a las concentraciones conocidas del fármaco (Priebe y Schwarz, 2003).

El análisis de la actividad de agentes antimicrobianos *in vivo* es mucho más complejo que las circunstancias *in vitro* algunos factores que intervienen en la interacción fármaco- patógeno y huésped son: 1) Ambiente, 2) actividad metabólica del huésped, 3) distribución del fármaco, 4) localización de los microorganismos y 5) sustancias que interfieren (Shin *et al.*, 2005).

VI. Alteración de la flora microbiana

Los efectos del origen de la resistencia bacteriana por medio de esta vía han sido demostrados en los trabajos de Aarestrup y colaboradores (2000), al encontrar enterococos resistentes a la vancomicina, tetraciclina y otros antibióticos en las heces de cerdos, pollos y seres humanos. En los tres especímenes se halló el mismo gen (VAN-A) de resistencia a la vancomicina. El mismo autor en otro estudio encontró cepas resistentes de *Escherichia coli* en seres humanos, como consecuencia del uso de antibiótico en la producción de alimentos para animales.

1.6. Palatabilidad

La palatabilidad se define como un conjunto de características organolépticas de una sustancia, independientemente de su valor nutritivo, que hacen para un determinado individuo que dicha sustancia sea más o menos placentera.

Como se observa en el cuadro 4, el cerdo es una de las especies con mayor número de botones gustativos, contando aproximadamente con 5,000 en las papilas fungiformes, 10,000 en las papilas circunvaladas y 4,800 en las papilas foliadas, contra 1,600, 6,000 y 3,000 que poseen los seres humanos, respectivamente (Chamorro *et al.*, 1993; Fontanillas y Roura, n.d).

Cuadro 4. Diferencia en la cantidad y tipo de papilas gustativas presentes en humanos y cerdos

Especie	Papilas fungiformes	Papilas circunvaladas	Papilas foliadas
Humano	1600	6000	4800
Cerdo	5000	10000	3000

La rama timpánica responde con mayor intensidad a los estímulos ácidos mientras que el nervio glossofaríngeo responde mayoritariamente a los compuestos amargos. Ambos nervios responden también al glutamato sódico y a ciertos compuestos dulces, como la fructosa, sacarosa y glucosa, mientras que otras sustancias dulces como la taumatina, neoesperidina o sacarina producen poca estimulación. En los cerdos las preferencias a distintas soluciones acuosas dulces responden tanto a concentraciones crecientes como decrecientes de sacarosa, glucosa o sacarina sódica en agua (Goatcher y Curch, sin fecha).

1.7. Olfato

La capacidad de detección olfativa de los cerdos, es mucho mayor si la comparamos con la del hombre, tal vez debido a que cuentan con mayor número de conexiones entre células olfativas y células mitrales (Parfet y Gonyuo, 1991).

Durante la ingestión del alimento, a través de la comunicación retrofaríngea entre la cavidad nasal y bucal, se produce un refuerzo del aroma percibido y se crea una asociación compleja entre gusto y olor. Los estímulos pueden ser complejos y existe una estrecha relación entre los distintos órganos de los sentidos y más concretamente entre el sentido del olfato y del gusto.

1.8. Antecedentes del florfenicol

El florfenicol es un análogo del tianfenicol y se relaciona estructuralmente con el cloranfenicol. A diferencia del cloranfenicol, el florfenicol posee un metilsulfonilo en sustitución del p-nitro, lo que en el ser humano evita la producción de anemia aplásica por residuos. Es una molécula neutra con una alta solubilidad en lípidos, lo que le confiere una excelente distribución a tejidos y fluidos orgánicos (Hayes *et al.*, 2003).

Existen estudios farmacocinéticos en diferentes especies y se ha utilizado en algunas de ellas, tales como cerdos, ovinos, camarones, caprinos conejos patos, pollos de engorda y bovinos. Es un nuevo antibiótico para uso exclusivo en veterinaria (Voorspoels *et al.*, 1999). En 1995 se autorizó su uso inyectable para el tratamiento de enfermedades respiratorias en bovinos y en cerdos en el año 2000 (Priebe y Schwarz, 2003).

El florfenicol se recomienda para el tratamiento de enfermedades respiratorias en ganado (Rooney *et al.*, 2005). Sin embargo, hay evidencia que también es efectivo en cerdos porque su actividad antibacteriana afecta a patógenos de las enfermedades respiratorias de los cerdos, tales como *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Pasteurella multocida*. Por su espectro es evidente que puede

resultar de una gran eficacia en el tratamiento y prevención de enfermedades del cerdo y, de hecho, tiene un importante lugar en la clínica porcina cuando se le administra como premezcla. No obstante, los productores y médicos veterinarios han empezado a incursionar en la medicación vía agua de bebida en esta especie (Voorspoels *et al.*, 1999; Kijima-Tanaka *et al.*, 2003; Jiang *et al.*, 2006).

Cerdos con pleuroneumonía y resistentes a antibióticos como el tianfenicol mejoraban considerablemente empleando florfenicol en el alimento a dosis de (50mg/Kg) (Ueda *et al.*, 1995). El florfenicol administrado en el agua de bebida puede variar en su eficacia debido a factores como el pH, la concentración de cloro, las aguas duras y la presencia de algunos materiales, como lámina galvanizada los cuales afectan su estabilidad y biodisponibilidad.

Existen estudios que sugieren que el florfenicol en dosis de 20 ppm provee una adecuada protección contra *A. pleuroneumoniae*, pero no elimina los signos clínicos ni las lesiones de los animales, mientras que concentraciones de 40 ppm, incrementan la eficacia, disminuyendo las lesiones y signos causados por este agente (Liu *et al.*, 2003).

El principal obstáculo es que, a diferencia de lo observado en aves comerciales, el cerdo muestra una elevada capacidad para detectar sabores en el agua y a menudo se reduce drásticamente su consumo cuando el agua ha sido medicada, incluso llegando a rechazarla por completo (Agersø *et al.*, 1998).

1.9. Características químicas del florfenicol

El nombre químico del florfenicol es (d-tre-2,2-N-c-a(fluormetilo)-β-hidroxi-pp(fenetilo)acetamida). Su fórmula condensada es: C₁₂H₁₄CL₂FNO₄S (Figura 1), con peso molecular de 358.2 daltones y punto de fusión entre 153 y 154 °C. El pH es de 3 a 9; es soluble en solventes orgánicos (polietilenglicoles, N-metilpirrodilona), poco soluble en agua, pero con una solubilidad relativamente elevada en lípidos., el coeficiente de partición octanol agua es de 2.36 (Park *et al.*, 2008).

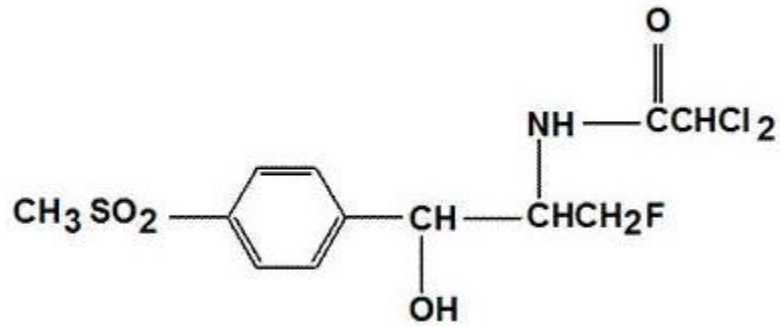


Figura 1. Fórmula química del florfenicol

1.10. Mecanismo de acción antibacteriana y espectro

El florfenicol se une irreversiblemente a la subunidad 50s ribosomal, por lo que inhibe la síntesis de proteínas bacterianas. Ataca a la enzima peptidil-transferasa, evitando la transferencia de aminoácidos en la formación de cadenas peptídicas y la subsecuente formación de proteínas. Los receptores bacterianos son los mismos que para el cloranfenicol; es un antibiótico bacteriostático. Su espectro de acción antimicrobiana es más potente y amplio que el del cloranfenicol y el del tianfenicol frente a bacterias gram-negativas y gram-positivas. Algunos de los géneros bacterianos sensibles al florfenicol implicados en el complejo respiratorio porcino son *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Salmonella cholerasuis* y *typhi*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus* sp y *Klebsiella pneumoniae*. Existen estudios en los que se encontró que el punto de corte de la concentración mínima inhibitoria (CMI) considerada a partir de la primera dilución en donde ya no hubo crecimiento bacteriano fue $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ MIC 50 Y MIC 90 del .5 μg y 0.12 a 4 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Hayes *et al.*, 2009).

En el cuadro 5 se presentan los valores de la CMI referidos en la literatura para algunas especies bacterianas que afectan el sistema respiratorio de los cerdos.

Cuadro 5. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de florfenicol para ciertos patógenos que afectan vías respiratorias en cerdos

Patógeno	CMI 50 (µg/ml)	CMI 90 (µg/ml)
* <i>Pasteurella multocida</i>	0.25-1	0.5
	0.25-0.5	0.5
		0.78
** <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	0.2-1.56	0.5
	0.12-1.0	
* <i>Bordetella brochiseptica</i>	1.0-3.2	8
	1.0-4.0	2

*(Shin *et al.*, 2005); **(Priebe y Schwarz, 2003)

1.11. Farmacocinética

El florfenicol administrado a los cerdos de forma oral se absorbe rápida y completamente del tracto gastrointestinal, de donde pasa al torrente sanguíneo y es distribuido a los tejidos y órgano blanco. Las concentraciones son relativamente más altas en bilis, riñón, intestino delgado y orina (Hayes *et al.*, 2009).

Administrado vía oral en cerdos alcanza su pico máximo de concentración en suero a las 3 horas y su vida media de eliminación es de 64 - 80 horas En cerdos sanos, la concentración máxima plasmática es de 10.84 µg/ml. El florfenicol presenta una amplia distribución en función de los valores calculados del volumen de distribución y del volumen de distribución en fase estacionaria (1.17 L/Kg y de 0.95 L/Kg respectivamente) (Park *et al.*, 2008).

En el cuadro 6 se muestran algunos de los parámetros farmacocinéticos detectados por el método de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) a partir de plasma de cerdos a los que se les administró florfenicol a diferentes dosis en bolo por vía oral.

Cuadro 6. Parámetros farmacocinéticos encontrados por HPLC en plasma por varios autores a partir de la dosificación de florfenicol vía oral en bolo en cerdos sanos.

Parámetro de referencia	(Liu <i>et al.</i> , 2003)	(Jiang <i>et al.</i> , 2006)	(Jiang <i>et al.</i> , 2006) En ayuno (b)	(Jiang <i>et al.</i> , 2006) Pospandrial(b)	(Voorspoels <i>et al.</i> , 1999) (15mg/kg)
AUC(mg/ml)	65.89 ±12.79	132.1 ± 17.6	91.4 ±7.5	88.5 ± 2.2	100.5 ±16.1
T1/2B(h)	2.87 ±1.64	10 ± 2.1	6 ± 0.3	6.4 ± 0.9	5.5 ±4.2
Cmax (mg/ml)	10.84 ±2.71	9.9 ± 2.4	15.1 ± 0.7	7.5 ±1.7	14.8 ±2.6
Tmax (h)		1.5 ± 0.6	1.2 ± 0.8	2 ±0.7	3.0 ±0.9

AUC - Área debajo de la curva, concentración-tiempo extrapolada al infinito; T1/2B - vida media de eliminación en la fase B; Cmax - Concentración máxima en el plasma; Tmax - tiempo de máxima concentración.

Para conseguir una terapéutica adecuada con florfenicol soluble se requiere lograr concentraciones séricas terapéuticas, mismas que deberán mantenerse por lo menos durante 75% del día, ya que se ha señalado que es cuando el fármaco tiene un efecto óptimo; esto es, su relación farmacocinética/farmacodinamia (PK/PD) es tiempo dependiente: debe de estar 3 a 4 veces por arriba de la CMI por lo menos durante 4 horas.

1.12. Tiempo de retiro y residuos

En los cerdos el tiempo de retiro recomendado es de 16 días post aplicación intramuscular. En el cuadro 7 se muestran los límites máximos de residuos (LMR) en los tejidos del cerdo para productos de consumo humano permitidos por la EMEA (European Medicines Agency, por sus siglas en ingles).

Cuadro 7. Límites máximos de residuos permitidos en tejidos de cerdo utilizados en productos para consumo humano (EMEA)

Sustancia activa	Residuo marcador	Especie	Tejido	Límites Máximos de Residuos
Fluorfenicol	Amina-fluorfenicol	Porcinos	Músculo	300mg/ml
			Piel y grasa	500 mg/ml
			Hígado	2000 mg/ml

1.13. Clasificación de los antibióticos dependientes de la concentración/tiempo

La concentración mínima Inhibitoria (CMI), es definida como la concentración más baja del fármaco capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, esta CMI permite observar el comportamiento de los antibacterianos en relación con ciertas cepas bacterianas in vitro y que difiere de su comportamiento in vivo debido a diversos factores.

El grupo de antibacterianos clasificado como concentración-dependiente (fluoroquinolonas, aminoglicósidos) se caracterizan por conseguir la muerte bacteriana en poco tiempo y dependiente de la concentración del fármaco, por lo que se requieren altas concentraciones del fármaco en plasma y tejidos, con lo que se incrementa la actividad bactericida (Kasiakou *et al.*, 2005).

1.14. Usos clínicos en cerdos

El florfenicol se utiliza en el tratamiento de enfermedades respiratorias asociadas a *Actinobacillus pleuroneumoniae* y *Pastereulla multocida* (Voorspoels *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2003). Se encuentran en presentación oral para agua de bebida a concentración de 23 mg/ml o 400 mg por galón de agua (100 ppm.), administrándose por 5 días. En la presentación inyectable intramuscular, a dosis es de 15 mg/kg, repitiendo a las 48 horas. En la presentación para alimento, la dosis recomendada es de 20 mg /Kg. En el cuadro 8 se muestran las presentaciones más recientes en el mercado para uso del florfenicol en cerdos, dosis y vías de administración.

Cuadro 8. Presentación comercial del florfenicol, vía de administración y dosis recomendadas

Presentación	Vía de administración	Dosis
Premezcla para alimento	Oral	20 mg/Kg
Inyectable	Intra muscular (IM)	15 mg/Kg
Solución para agua de bebida	Oral	10 - 23 mg/Kg

(Foster, 2008)

Diferentes laboratorios farmacéuticos han logrado formular preparados a base de florfenicol soluble, argumentando que evitan que el consumo de agua se deprima y, gracias a ello, se logren concentraciones séricas terapéuticamente acordes con la relación PK/PD mencionada. El ensayo que se describe a continuación pretende demostrar la diferencia en la palatabilidad de tres preparados de florfenicol soluble, lo cual afecta directamente el consumo de agua y, por lo tanto, la dosificación real, incidiendo en los valores séricos del fármaco en los cerdos medicados.

2. Justificación

A pesar de que existen antibacterianos de uso exclusivamente veterinario, se han encontrado genes de resistencia bacteriana *aaC_c4* (aparamicina) y *hphB* (higromicina) co-transferidos tanto en animales como en seres humanos. En este sentido, la Comisión de la Unión Europea en el mes de marzo de 2002 hizo hincapié en la necesidad de desarrollar alternativas válidas a los antibióticos promotores del crecimiento. Estas alternativas deben cumplir dos requisitos fundamentales:

- Ser eficaces y, por tanto, ejercer un efecto positivo sobre la producción animal.
- Carecer de riesgo para la salud humana, la salud animal y el medio ambiente.

En este sentido, se pueden considerar dos alternativas no excluyentes al uso de los antibióticos como promotores de crecimiento:

A.- Implantación de nuevas estrategias de manejo en producción animal, encaminadas a reducir la incidencia de las enfermedades en los animales, de forma que se pueda evitar el empleo de los antibióticos con fines terapéuticos y las pérdidas en los niveles de producción ocasionadas por las enfermedades.

B.- Utilización de otras sustancias que tengan efectos similares a los antibióticos promotores de crecimiento sobre los niveles productivos, pero que no acarreen los problemas de resistencia. En cuanto a las sustancias alternativas, destacan como principales opciones el empleo de probióticos y prebióticos, los ácidos orgánicos, las enzimas y los extractos naturales. Estos productos alternativos se pueden utilizar individualmente o en mezclas sinérgicas según los casos (Delsol *et al.*, 2005).

Las dosis metafilácticas se definen como la aplicación de un antibacteriano en masa en un aumento estratégico para prevenir la instauración del cuadro clínico (Catry *et al.*, 2008). Sus objetivos son: reducir la morbilidad, mejorar el rendimiento,

suplir la inexperiencia del personal y mejorar los beneficios. Sin embargo, el manejo en la administración de dosis metafilácticas erróneas son las que han contribuido a la formación de resistencia bacteriana contra los antibacterianos utilizados a lo largo de los años y en las diferentes especies bacterianas, ya que en la práctica las dosis utilizadas para la metafilaxia o dosis como promotores de crecimiento son dosis a la mitad de las terapéuticas lo que resulta en una subdosificación (Voorspoels *et al.*, 1999; Herradora y Martínez-Gamba, 2003).

Por lo anteriormente mencionado, es importante probar en cerdos fármacos con adecuada palatabilidad y verificar el consumo de agua por etapa en las granjas para calcular las dosis de antibacterianos adecuadas, que permitan alcanzar las concentraciones terapéuticas requeridas para evitar la resistencia bacteriana en la industria porcina, disminuyendo costos y aumentando su efectividad contra las enfermedades de vías respiratorias.

3. Hipótesis

La palatabilidad de los diferentes preparados de florfenicol soluble influyen de manera directa sobre el consumo de agua medicada y, por ende, sobre la dosificación real obtenida detectada a partir de los parámetros farmacocinéticos obtenidos.

4. Objetivo General

Demostrar la diferencia en la palatabilidad de tres preparados solubles de florfenicol para agua de bebida en cerdos y la importancia de conocer el consumo de agua de los cerdos en las granjas para calcular la dosis requerida con el fin de establecer dosis terapéuticas.

5. Objetivos específicos

Obtener el consumo de agua de los cerdos en estudio en situaciones reales en una granja antes de la administración del florfenicol en el agua de bebida.

Registrar el cambio en el consumo de agua en los cerdos en estudio después de la administración de tres preparados de florfenicol.

Comparar la diferencia en la palatabilidad del florfenicol a dos diferentes dosis, comparando dos genéricos con el de patente.

Obtener parámetros farmacocinéticos del florfenicol en el plasma de los cerdos por medio del estudio microbiológico de Bennett con las dos dosis administradas.

6. Material y Métodos

Los experimentos se llevaron a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, ubicado en el Km. 2 de la carretera Jilotepec-Corrales, en Jilotepec, Estado de México. El centro se encuentra en los 99° 31' 45" de longitud oeste y 19° 57' 13" latitud norte, a una altura de 2,250 metros sobre el nivel del mar. El clima de la región es templado en verano y extremoso en invierno; la temperatura media es de 18° C y varía entre los 12° C y los 24° C. El régimen de lluvias comprende de junio a septiembre y el promedio de precipitación pluvial es de 608 mm, iniciando las primeras heladas en octubre y prolongándose hasta marzo.

Se utilizaron 24 cerdos, hembra y machos, híbridos, cruce madre Landrace – Yorkshire y padre línea terminal de Pietran, Duroc y Ham, de 48 días de edad (18 días post-destete) y peso promedio de 22.9 Kg. Los tratamientos fueron asignados en forma aleatoria en seis corraletas de 1.48 x 1.48 metros con piso de rejilla, con 4 cerdos en cada una. Los animales no habían sido tratados previamente con antibacterianos y se encontraban desparasitados e inmunizados conforme a las prácticas de manejo de la granja. Al momento de iniciar el estudio consumían alimento pre-iniciador, con base en sorgo – soya, cubriendo las necesidades de la etapa correspondiente (National Research Council, 1988).

Para el suministro de agua se emplearon bebederos de chupón con una capacidad de 8,800 mL, ubicados a 25 cm de altura del piso. Para el suministro de alimento se utilizaron comederos tipo tolva, con cinco espacios, ambos para la etapa correspondiente al destete.

A cada corral se asignó en forma aleatoria un tratamiento distinto, seis en total, distribuidos como sigue: tres grupos con dosis de (11.08 mg/kg) de florfenicol de tres laboratorios distintos, el de patente y dos genéricos y tres grupos triplicando la dosis (33.24 mg/kg) con la finalidad de observar la palatabilidad e influencia directa sobre el consumo del agua a mayor concentración de florfenicol.

Se midió el consumo de agua en los 6 grupos durante 10 días para obtener el consumo basal promedio por kilo de peso vivo.

El día 10 a los 6 grupos se les restringió el agua a partir de las 20 horas, y el día 11 a las 8.00 am se le administró a cada grupo el florfenicol con la dosis asignada, mezclándolo previamente por agitación e incorporándolo en el agua de bebida, durante 5 días, se observó y registro el tiempo en el que cada grupo terminaba de consumir el agua medicada.

El día 15 a los 6 grupos se suspendió el aporte de agua a las 20 horas, reiniciando su administración el día 16 a las 8:00 horas esta vez usando agua medicada, para tomar muestras de sangre a diferentes tiempos recuperando el suero y posteriormente se llevo a cabo el estudio microbiológico de Bennet (Bennett *et al.*, 1966). Durante los 15 días del estudio se registraron la temperatura ambiente y la humedad relativa. El estudio se realizó en varias etapas, mismas que se describen a continuación.

a. Etapa 1. Adaptación y cuantificación del consumo basal

Los cerdos se sometieron a una etapa de adaptación de 5 días previo al inicio del estudio (48 días de edad), con la finalidad de evitar el estrés por cambios del medio ambiente, alimentación y manejo. Para cada grupo se cuantificó el consumo basal de agua diariamente, durante 7 días, empleando tinacos de plástico de 8,800 ml por cada corral, supervisando su nivel en 4 horarios diferentes (8:00, 12:00, 16:00 y 20:00 horas) y rellenando manualmente hasta su borde superior en cada revisión. Los tinacos se ubicaron a 25 cm de altura del piso y a 5 cm de altura del cerdo más pequeño, estando a la vista en cada corral.

b. Etapa 2. Criterios para la dosificación

Las indicaciones para administrar los productos comerciales en el agua de bebida son las siguientes. A partir del producto comercial que viene al 10 % se debe administrar de 50 a 100 mL del producto comercial en 100 L de agua de bebida. Esta

dilución equivale a una concentración de 5 – 10 g /100mL de agua, por lo que cada cerdo alcanza, según el laboratorio dosis de 200 mg por cerdo. Los tinacos que se utilizaron en este estudio fueron de 8,800 mL de agua, por lo que se le administraron 10 mL del producto comercial equivalente a 1,000 mg de florfenicol. La concentración de florfenicol en cada mL de agua medicada fue de 0.11mg/mL. Los corrales y tratamientos se asignaron aleatoriamente, constando el experimento de seis tratamientos (A1, B1, C1, A2, B2, C2), para los cuales (A) (B) y (C) corresponden a 3 productos comerciales, cada uno subdividido a su vez en dos niveles correspondientes a las dosis utilizadas, siendo (1) con dosis de 11.08 mg/Kg y (2) 33.24 mg/Kg, cuadro 9.

Cuadro 9. Dosis de florfenicol por tratamiento

Tratamientos	Dosis
A1 Colmax®	
B1 Nuflor®	11.08 mg/Kg
C1 Nutricol®	
A2 Colmax®	
B2 Nuflor®	33.24 mg/Kg
C2 Nutricol®	

Las dosis utilizadas en el presente estudio tomaron en cuenta la dosis recomendada por laboratorios comerciales (10 mg/Kg) y la sugerida en la literatura revisada (20 mg/Kg). El criterio para las dosis utilizadas en el nivel (1), fue la dosis comercial, que representa la dosis mínima, y para el nivel (2) la dosis fue triplicada para observar el efecto de la palatabilidad de los tratamientos evaluados, como se observa en el cuadro 10.

Cuadro 10. Comparativo entre dosis de florfenicol (mg/Kg)

Tratamientos	Total de peso vivo (Kg)	Recomendado la literatura	Recomendado por laboratorio	Dosis utilizada en el estudio
A1 Colmax®	90.2	1,804	902.0	999
B1 Nuflor®	86.4	1,728.0	864.0	957
C1 Nutricol®	76.9	1,538	769	852
A2 Colmax®	93.4	5,604	2,808.0	3,104
B2 Nuflor®	98.6	5,916	2,958	3,277
C2 Nutricol®	103.6	6,216.0	3,108.0	3,443

* Dosis utilizada en el estudio incluyendo merma de 25% en el consumo de agua.

c. Etapa 3. Cuantificación del consumo de agua medicada

a) Al día 10 de la medición del consumo de agua basal se pesaron los cerdos de cada corral, y se les retiró el agua a las 20:00 horas del día 10 y a las 8:00 horas del día 11 se les administró el agua medicada en los tinacos, previamente homogenizada con los florfenicoles, registrando el tiempo en el que cada grupo terminaba el agua medicada, para posteriormente llenar el tinaco con agua sin fármaco. El día 11 se administró el medicamento en el agua según los tratamientos ya descritos y se registró el tiempo en el que consumieron el agua medicada, antes de llenar los bebederos nuevamente con agua sin medicamento.

Es necesario señalar que la unidad de observación fueron los mismos 4 cerdos de la unidad experimental

b) Se obtuvo el consumo de ml/kg/h de agua con florfenicol basándose en el tiempo en el que cada grupo de cerdos terminó de consumir el agua medicada y se calculó la cantidad total de agua consumida por cada individuo en una hora.

c) Se obtuvo la concentración de medicamento encontrada en cada mL de agua medicada utilizando la siguiente ecuación:

Concentración mg/mL = mg florfenicol / ml agua en los tinacos de cada corral

d) La unidad de análisis fue el consumo de agua de los 4 cerdos de la unidad experimental. Se calcularon los promedios y desviaciones estándar del consumo de agua en mL/kg/h en los seis grupos de cerdos, y para los días 11 al 15 se registró el tiempo que requirió cada grupo de cerdos de cada tratamiento para lograr el consumo total del agua medicada.

Consumo/h = Consumo total de agua (mL) / número de horas que tardaron en consumirla.

e) Los cerdos de cada corral se pesaron los días 1, 5, 10 y 16. A partir de estos pesos se estimaron los de los días intermedios, que se tomaron en consideración para calcular el consumo en mL/kg/h de los días 11 al 15.

f) Para evaluar el comportamiento de los valores observados en el consumo de agua de los 6 tratamientos durante los 5 días de medicación se ajustó un modelo de regresión lineal simple o en su caso un modelo cuadrático. El criterio para la aplicación de uno u otro fue el comportamiento de los datos observados y el coeficiente de determinación (R^2).

El modelo de regresión lineal simple utilizado fue:

$$Y_t = \beta_0 + \beta_1 \times t + \varepsilon_t, \quad 0 \leq t \leq 5$$

Donde

β_0 = Efecto del intercepto al origen, valor desconocido.

β_1 = Efecto de regresión de los días de aplicación del florfenicol en el consumo de agua. Valor desconocido.

t = Número de días en que se aplicó el florfenicol, $t = 0,1,2,3,4,5$.

ε_t = Error experimental ocurrido en el tiempo t , $0 \leq t \leq 5$. Es una variable aleatoria tal que $E(\varepsilon_t) = 0$, $Var(\varepsilon_t) = \sigma^2$ y no correlacionadas.

Y_t = Consumo de agua en el día t . Es una variable aleatoria tal que la esperanza de $Y_t = \beta_0 + \beta_1 t$, $Var(Y_t) = \sigma^2$ y no correlacionadas.

El modelo cuadrático utilizado fue:

$$Y_t = \beta_0 + \beta_1 t + \beta_{11} t^2 + \varepsilon_t, \quad 0 \leq t \leq 5$$

Donde

$Y_t, \beta_0, \beta_1, t, \beta_{11}, \varepsilon_t$ Son términos iguales a los del modelo de regresión lineal simple descritos anteriormente.

β_{11} = Efecto de cuadrático de curvatura de la variable tiempo, valor desconocido.

t^2 = Es la variable tiempo elevado al cuadrado, $0 \leq t \leq 5$

Para el procesamiento y análisis estadístico de los datos se utilizó el paquete computacional JMP versión 7 (SAS, 2007).

Etapa 4. Obtención de muestras de sangre

El día 16 se tomaron muestras de sangre de cada individuo de la vena cava craneal, obteniendo en promedio 8 mL en tubos estériles y sin anticoagulante con los siguientes intervalos: basal \rightarrow 35 minutos \rightarrow 1.5 horas \rightarrow 3 horas \rightarrow 6 horas \rightarrow 9 horas. Inmediatamente después de la colección, cada una de las muestras se centrifugó a 3000 rpm, se recuperó e identificó el suero, y se congeló a -4° C, hasta su análisis, 5 días después.

d. Etapa 5. Concentración sérica de florfenicol

La concentración de florfenicol en cada muestra de suero se determinó mediante el análisis microbiológico cuantitativo/cualitativo descrito por Bennet *et al.*, (1996), el cual mide la concentración en términos de la actividad antibacteriana *in vitro* del fármaco.

A. Agar

El agar utilizado fue Mueller Hinton (Bioxon), preparado según indicaciones que marca el producto.

B. Cultivo bacteriano

Se utilizó una cepa bacteriana ATCC (American Type Culture Collection) *Bacillus subtilis* 6633.

C. Estándar bacteriano (Obtención de la spora de *Bacillus subtilis* 6633)

En un tubo de tapón de rosca se colocaron 5 mL de agua destilada y una asada del cultivo bacteriano *Bacillus subtilis* (resembrado 24 horas antes). Se resembró en una caja de Petri y se cultivó a temperatura ambiente el crecimiento se recogió con una espátula y se centrifugo durante 20 minutos a 3500 rpm, se decantó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento con 50 mL de caldo de cultivo estéril, calentando la suspensión por 30 min a 70°C posteriormente se refrigeró por dos para después impregnar la placa del agar una vez estandarizado por medio de los índices de Mc Farland (Bio Mériux) y se realizaron los ajustes necesarios para obtener una concentración al 0.5 de Mc Farland.

La turbidez obtenida se leyó por medio de un espectrofotómetro a una transmitancia del 60 – 65%, la cual corresponde a una concentración bacteriana de 1×10^{10} .

D. 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. Sobre el agar ya frío se colocaron 200 µL de la suspensión de la spora bacteriana y con un hisopo estéril se distribuyó homogéneamente sobre todo el agar dejando reposar a temperatura ambiente por dos horas.

E. Preparación de las diluciones

Se pesaron 20 mg de sal pura de florfenicol (Shering Plough), se colocaron en vaso de precipitados y se vertieron 10 ml de agua desionizada. Se marcaron 10 tubos de 5 mL y un tubo de 15 mL con el número 0. En el tubo numerado con el 0 se colocaron 9 mL de agua desionizada y en cada uno de los demás tubos se colocó 1 mL de la solución contenida en el vaso de precipitados y se coloca en el tubo 0. Se homogenizó y de ese tubo se obtuvo 1 mL que se agregó al tubo 1; se homogenizó y se tomó 1 mL del tubo agregándolo al tubo 2; de esta forma sucesivamente hasta completar 7 tubos, obteniéndose las diluciones que aparecen en el cuadro 10.

Cuadro 11. Diluciones del estándar del florfenicol para la preparación de las placas

Identificación	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)
Vaso de Precipitados	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
Tubo 7	0.15625
Tubo 8	0.078125
Tubo 9	0.0390625
Tubo 10	0.01953125

(Bennett *et al.*, 1966)

F. Preparación de las placas

Una vez preparada la placa y con ayuda del sacabocados se realizaron a lo largo del refractario dos hileras con 10 pozos cada una. En cada pozo se colocaron 100 μl de cada una de las diluciones por duplicado. Se trabajaron 5 placas en el mismo día con la misma metodología, con la finalidad de tener un total de 10 lecturas. Se incuban durante 24 horas a 37° C, posteriormente a la incubación se miden los halos de inhibición por pozo y por placa.

G. Procesamiento de las lecturas de los halos de inhibición

Se obtuvieron medias y desviaciones estándar del diámetro de halos de inhibición de cada una de las diluciones. A partir de los cuáles y con ayuda de los programas Microcal Origin ¹ y Excel ² , se obtuvieron las gráficas de mL de halos de inhibición vs concentración.

H. Procesamiento de los sueros

Se prepararon las placas con la misma concentración de bacteria del mismo modo que se prepararon las placas para obtener el estándar por el método de Bennet *et al.*, se realizaron los pozos y en la placa se sembraron 100 μ L de suero obtenido en cada tratamiento a diferentes tiempos de sangrado, incubando durante 24 horas, para posteriormente realizar las lecturas de los mm de halos de inhibición.

¹ Microcal Origin versión 4.0 Scientific and Technical Graphics in Windows. Microcal software Inc.

² Microsoft Excel.1985-97

7. Resultados

a. Etapa 1. Adaptación y cuantificación del consumo basal

Fueron analizados los consumos de agua por tratamiento durante la totalidad del experimento y en sus dos etapas, a partir de ellos se calculó el porcentaje de disminución en el consumo de agua antes y después de la medicación con florfenicol, cuadro 9 y figura 2.

Cuadro 12. Promedio (Desviación estándar) para consumos de agua (mL/Kg/h) por día, por tratamiento.

Tratamientos	Consumo de agua durante todo el experimento (13 días)	Consumo de agua sin medicación (Primeros 8 Días)	Consumo de agua medicada (Últimos 5 días)	Disminución en consumo de agua antes y durante la medicación (%)
A1 Colmax®	10.46 ±0.92	10.75 ±0.78	9.99 ±0.99	7.1
A2 Colmax®	9.04 ±0.99	9.43 ±0.58	8.42 ±1.24	10.7
B1 Nuflo®	10.35 ±1.08	11.02 ±0.67	9.26 ±0.55	16.0
B2 Nuflo®	9.17 ±1.29	9.94 ±0.58	7.94 ±1.16	20.1
C1 Nutricol®	8.46 ±1.51	9.36 ±0.97	7.02 ±1.08	25.0
C2 Nutricol®	9.20 ±0.72	9.48 ±0.50	8.76 ±0.84	8.0

b. Etapa 3. Cuantificación del consumo de agua medicada

En el cuadro 12 se presentan los promedios de los consumos de cada corral (ml/kg/h) sin medicar y medicados, así como los diferenciales entre estas dos variables. En todos los corrales hubo un diferencial negativo, es decir, el consumo de agua disminuyó con la medicación.

Las medias aritméticas para el consumo de agua sin medicar y medicada con distintas dosis de florfenicol, el coeficiente de correlación de estas variables y la temperatura ambiente promedio se presentan en las figuras 3 a 14, respectivamente.

Cuadro 13. Estadística descriptiva para aumento de peso por corral, sin y con medicina

Tratamiento	Días de tratamiento	Promedio	Desviación estándar
A1 Colmax®	8	10.75	0.782
A1 Colmax® M	5	9.99	0.993
A2 Colmax®	8	9.43	0.584
A2 Colmax® M	5	8.42	1.235
B1 Nuflor®	8	11.02	0.671
B1 Nuflor® M	5	9.26	0.554
B2 Nuflor®	8	9.93	0.584
B2 Nuflor® M	5	7.94	1.156
C1 Nutricol®	8	9.36	0.927
C1 Nutricol® M	5	7.02	1.077
C2 Nutricol®	8	9.48	0.504
C2 Nutricol® M	5	8.76	0.843

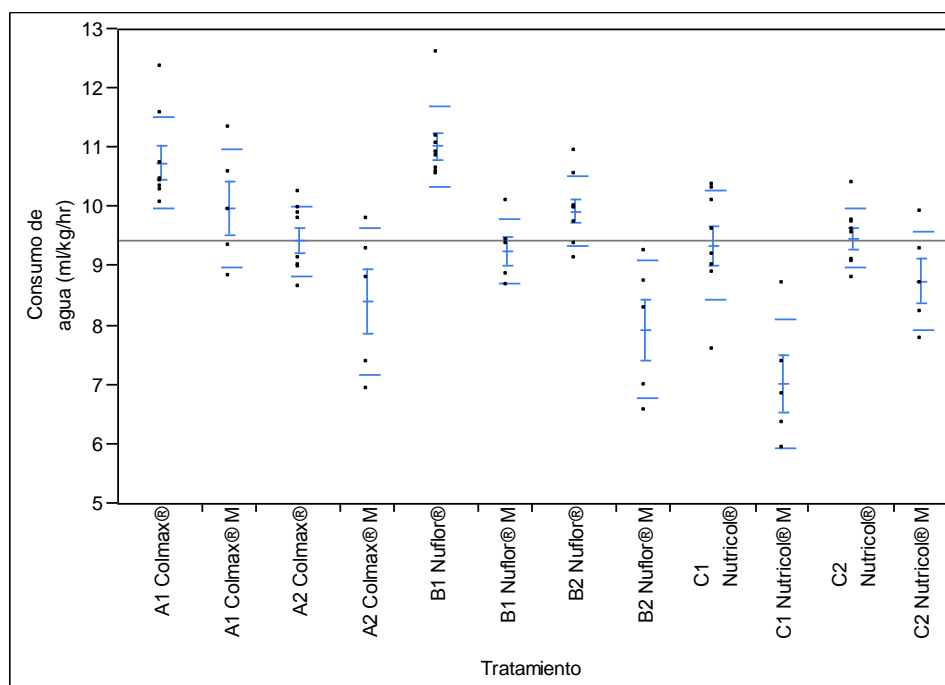


Figura 2. Gráfica con estadística descriptiva para consumo de agua por corral, sin y con medicina.

Gráficas de regresión lineal simple entre consumo de agua y temperatura ambiental para cada tratamiento, antes (izquierda, números nones) y después de la medicación (derecha, números pares).

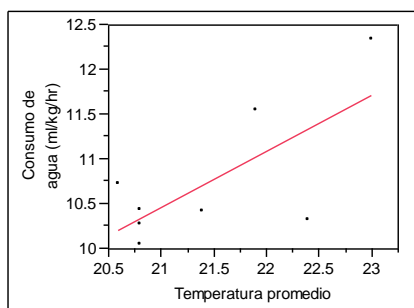


Figura 3. Regresión para A1 Colmax®.

$$R^2 = 0.496736$$

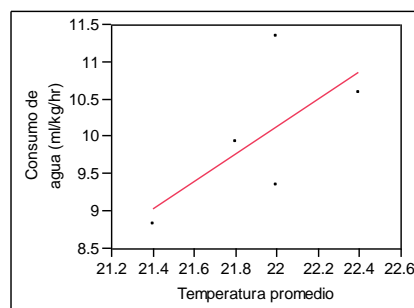


Figura 4. Regresión para A1 Colmax® M.

$$R^2 = 0.437226$$

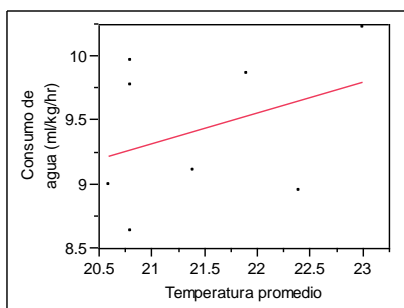


Figura 5. Regresión para A2 Colmax®.

$$R^2 = 0.129005$$

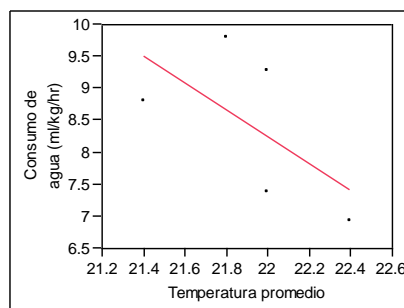


Figura 6. Regresión para A2 Colmax® M.

$$R^2 = 0.373228$$

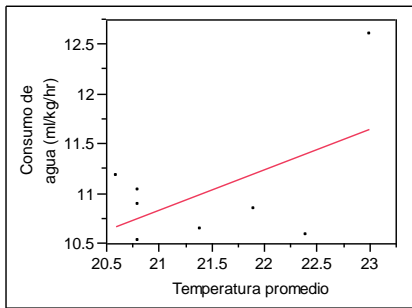


Figura 7. Regresión para B1 Nuflor®.

$$R^2 = 0.287431$$

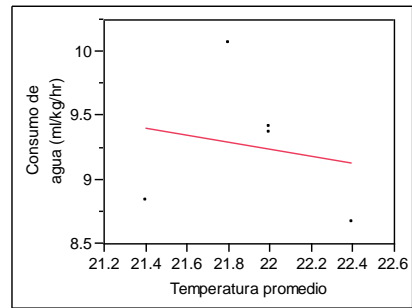


Figura 8. Regresión para B1 Nuflor® M.

$$R^2 = 0.031097$$

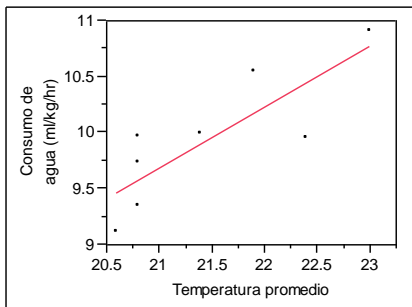


Figura 9. Regresión para B2 Nuflor®.

$$R^2 = 0.681887$$

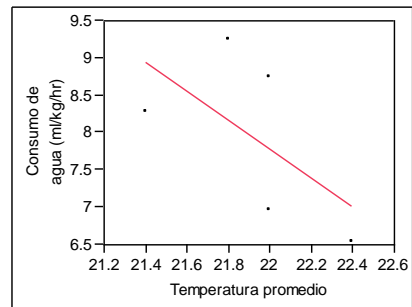


Figura 10. Regresión para B2 Nuflor® M.

$$R^2 = 0.369396$$

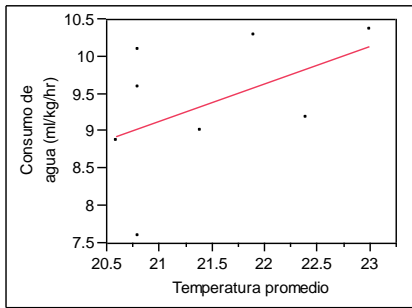


Figura 11. Regresión para C1 Nutricol®.
 $R^2 = 0.228599$

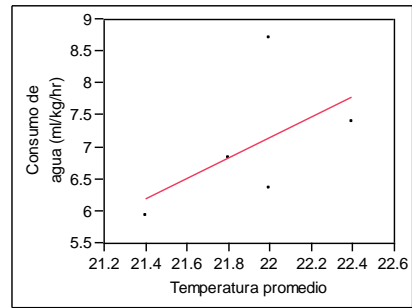


Figura 12. Regresión para C1 Nutricol® M.
 $R^2 = 0.290332$

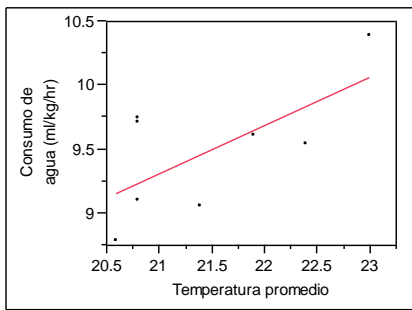


Figura 13. Regresión para C2 Nutricol®.
 $R^2 = 0.43509$

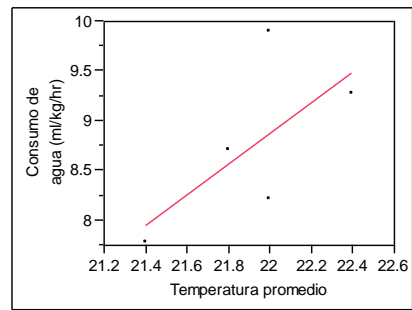


Figura 14. Regresión para C2 Nutricol® M.
 $R^2 = 0.438844$

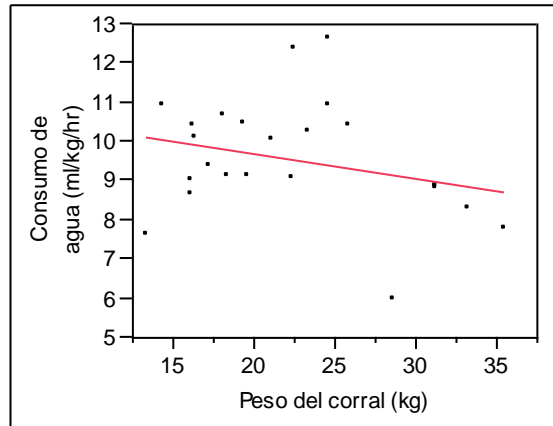


Figura 15. Regresión lineal simple entre consumo de agua y aumento de peso por día, para todos los días de tratamiento. $R^2=0.075674$.

c. Etapa 4 y 5. Obtención de muestras de sangre y determinación de concentración sérica de florfenicol

El análisis microbiológico de Bennet, no reveló halos de inhibición medibles en ninguno de los sueros obtenidos.

8. Discusión

Este trabajo es un estudio exploratorio de la importancia del consumo de agua y la palatabilidad de los antibacterianos proporcionados en el agua de bebida para cerdos en etapa de destete y su relación con las dosis terapéuticas, bajo condiciones reales de una granja en producción.

El proyecto dio inicio con cerdos de 36 días de edad promedio, mismos que fueron pesados, y los tratamientos y corrales fueron aleatorizados. A partir de ese momento comenzó la etapa de adaptación (5 días). Al 6° día se dio inicio a la fase experimental, con la medición del consumo de agua; pero 2 días después, algunos de los animales presentaron trastornos gastrointestinales, suspendiéndose el estudio, que se reinició varios días después. Es por esto que al iniciar este estudio los cerdos contaban con 47 días de edad, quedando sólo 24 animales disponibles, mismos que nuevamente se pesaron y aleatorizaron en los tratamientos y corrales. Se inició la medición del consumo de agua aparente, terminando los 10 días cuando los cerdos tenían 57 días de edad. Es por esto que cuando se realizó la estadística descriptiva para analizar el consumo de agua se eliminaron los dos primeros días de la base de datos, pues el consumo de agua se encontraba disminuido por la relotificación y la jerarquización. Debido a las limitaciones de la disponibilidad de cerdos que cumplieran los criterios de inclusión para este experimento y las instalaciones no fue posible disponer de suficiente evidencia experimental. Sin embargo, la falta de estudios similares en la literatura enfatiza la importancia de este trabajo como el inicio de futuras investigaciones en áreas y temas afines.

El consumo promedio de agua en ml/Kg/h se muestra en el cuadro 3. Según diversos autores, los consumos de agua en la etapa de destete son de 1-5 L / día (Nienaber y Hahn, 1984; Zdzislaw *et al.*, 1995; Almond, sin fecha). En este estudio bajo las condiciones de la granja experimental, los consumos antes del tratamiento se encontraron entre 5.5 – 5.7 L/ día, lo que coincide con lo mencionado en la literatura.

Entre los factores que influyen en la cantidad de veces que los cerdos acuden al bebedero se encuentran: las características del alojamiento, la temperatura ambiental, el tipo de bebedero, la ubicación del bebedero y el peso de los cerdos, entre otros. Es un hecho que es complicado medir el consumo de agua, por lo que es más apropiado designarlo como gasto de agua. Se llega a mencionar que el desperdicio de agua de bebida de un bebedero de chupón llega a ser hasta de 60%. En este estudio los bebederos de chupón que se utilizaron permitieron controlar mejor la cantidad que ingresaba, ya que los tinacos se rellenaban manualmente según fuera disminuyendo su nivel. Es por esto que se consideró solo el 25% de desperdicio y no el 60%. Además, a medida que los cerdos fueron creciendo, el chupón resultó ser cada vez más pequeño para ellos, comparado con el que se utiliza comercialmente en esta etapa.

En este estudio la temperatura ambiental promedio registrada fue de $21.64^{\circ}\text{C} \pm 0.75$, dentro de la zona de termoneutralidad de los cerdos. Como se muestra en las Figs. 3 a 14, en cada tratamiento se observa que la temperatura es la misma en la nave, sin embargo, una vez que es aplicado el florfenicol los consumos varían. La temperatura tuvo una relación directa con el comportamiento del consumo de agua en todos los grupos a lo largo de los 10 días; sin embargo, esa relación se perdió al comenzar la dosificación con florfenicol en el día 11 (Figs. 3 y 4). Asimismo, en el consumo de agua, se observa respuesta al sabor cuando se agrega el florfenicol, el cambio menos notable corresponde al tratamiento A1 Colmax®, mientras que el tratamiento B2 Nuflor® es notable la disminución del consumo, por lo que se asume fue menos palatable

Tal como se observa en el cuadro 16, los tratamientos A1, C1 y C2 no tuvieron diferencias en la R^2 entre consumo de agua normal y medicada. La temperatura ambiental ejerció un efecto similar en ellos y la medicación con florfenicol no modificó el consumo de agua. Por alguna razón, la temperatura ambiente influyó más en el consumo de agua en los tratamientos A1 y C2 que en el C1. La relación entre temperatura ambiente y consumo de agua fue negativa en A2 medicado, con una

R² mayor que en A2 sin medicar; podría concluirse que la adición de este producto al agua afectó su consumo. La relación entre temperatura ambiente y consumo de agua fue negativa en los tratamientos B. En B1 casi se pierde la relación entre las variables (la R² fue muy pobre), pero en B2 la relación negativa fue más marcada. Esto podría significar que el producto comercial afectó negativamente la palatabilidad del agua y la dosis alta tuvo mayor efecto que la dosis baja. El grupo B2 sin medicar presentó mejor relación entre la temperatura ambiente y el consumo de agua.

Cuadro 15. R² entre consumo de agua y temperatura ambiente

Tratamiento	Sin medicar	Medicado
A1	0.497	0.437
A2	0.129	0.373*
B1	0.287	0.031*
B2	0.682	0.369*
C1	0.229	0.290
C2	0.435	0.439

* La asociación fue negativa.

Al utilizar un análisis de regresión lineal simple entre consumo de agua y temperatura ambiental para cada tratamiento sin mediación se observó que en todos los casos la correlación lineal fue positiva, lo que indica que el consumo de agua se incrementó en todos los grupos conforme la temperatura aumentó. Sin embargo, cuando se inició con la medicación en el agua, dos de los tratamientos, C2 Nutricol® y A2 Colmax®, presentaron una correlación lineal negativa de 37%, que no puede ser explicada por el aumento en la temperatura, por lo que tal disminución seguramente se asoció a la presencia del preparado de florfenicol en el agua de bebida (Fig. 3 a 14).

Para todos los tratamientos el último día de consumo basal de agua se tomó como referencia para hacer las comparaciones pertinentes con relación al primer día de la fase del consumo de agua con florfenicol. En el primer día con agua medicada se

observó, en general, una disminución en el consumo, tal y como se muestra en la Figura 2 y cuadro 12, donde se refleja una disminución de entre 7 y 20% en el consumo. Esto demuestra que la disminución en el consumo de agua estuvo directamente relacionada con el cambio de sabor por efecto de los tres diferentes preparados de florfenicol.

En comparación con la ganancia de peso reportada por Brumm (2006) de 559 g - 613 g/ día para cerdos de entre 20 y 30 kilos de peso, los cerdos en este estudio tuvieron una ganancia de peso de aproximadamente 900 g/día, como se observa en la Fig. 15, en la que se detalla el peso promedio por tratamiento durante los 15 días del estudio. La figura muestra que a mayor peso, mayor fue el consumo de agua. Sin embargo, en el cuadro 14 de consumo de agua se aprecia que los promedios de consumo en los tratamientos con agua medicada disminuyeron, independientemente de los días que transcurrieron y de la ganancia de peso.

Por otro lado los parámetros farmacocinéticos reportados señalados en el cuadro 6 se obtuvieron utilizando una sola dosis en bolo PO, lo cual garantiza que la dosis total de florfenicol se deposita en el estómago y posteriormente es absorbida. Asimismo, la evaluación de los sueros se realizó por el método de HPLC, el cual detecta metabolitos inactivos del florfenicol.

Debido a que el florfenicol es un fármaco tiempo- dependiente las concentraciones séricas deben estar por lo menos dos veces por arriba del valor de las CMI de los principales agentes patógenos, en el 75% del intervalo de dosificación, lo cual no se alcanzó en el presente estudio pues la ingesta del florfenicol a concentraciones de 11.83 y 33.24 mg/kg en el agua de bebida por 5 días no permitió que el florfenicol llegara de manera rápida en el tiempo y la concentración que otros autores reportan, pues las variables de consumo de agua por tratamiento y el peso de los cerdos ocasionaron que la dosis inicial se redujera. Por otro lado, el método utilizado para detectar el florfenicol en el suero y obtener los parámetros farmacocinéticos fue el estudio microbiológico de Bennet (1966), el cual detecta sólo el florfenicol activo, y tiene un límite de sensibilidad es de 2 µg/mL. Debido a que la vía

de administración de florfenicol en este estudio fue a través del agua de bebida, cuyo consumo se vio disminuido por los motivos arriba señalados, el método de Bennet no sirvió para encontrar valores de florfenicol detectables en el plasma. Desafortunadamente casi no hay información en la literatura tècnica en relación a la medicación oral através del agua de bebida que hagan referencia al consumo de la misma con relación a la palatabilidad de los medicamentos y su posterior detección en el plasma en condiciones reales de las granjas.

9- Conclusiones

Las presentaciones de florfenicol utilizadas en este estudio afectaron negativamente la palatabilidad del agua, siendo los productos menos palatables A y C, especialmente cuando la dosis se triplicó.

El efecto en la palatabilidad condujo a una disminución en el consumo de agua por parte de los cerdos, lo cual ocasionó una subdosificación del florfenicol.

La palatabilidad de los antibacterianos debería ser más alta, ya que en este estudio se observó que la palatabilidad influye de manera importante en el consumo de agua, lo cual repercutió en la subdosificación del florfenicol.

Con las dosis que sugieren los productos comerciales en la etiqueta no se alcanza la CMI, estas subdosificaciones terminarán por inhabilitar un antibacteriano aun muy valioso en la clínica.

Consideramos necesario realizar pruebas de eficacia con animales afectados por los patógenos que afectan las vías respiratorias en los cerdos a través de agua medicada en las condiciones experimentales de este trabajo y utilizar como método de detección HPLC

10. Recomendaciones

Es necesario realizar estudios de consumo de los antibacterianos en condiciones normales de granja, para que con las dosis recomendadas por los laboratorios, independientemente del manejo y etapa en la que se utilicen, realmente se alcancen dosis terapéuticas, para así disminuir o aminorar los problemas de resistencia bacteriana, con sus consecuencias en la salud pública, tan comunes en nuestro país.

11. Literatura citada

- Aarestrup, F.M., Agerso, Y., Gerner-Smidt, P., Madsen, M., Jensen, L.B., 2000. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. *Diagn Microbiol Infect Dis* 37, 127-137.
- Aarestrup, F.M., Hasman, H., Jensen, L.B., Moreno, M., Herrero, I.A., Dominguez, L., Finn, M., Franklin, A., 2002. Antimicrobial resistance among enterococci from pigs in three European countries. *Appl Environ Microbiol* 68, 4127-4129.
- Aarestrup, F.M., Oliver Duran, C., Burch, D.G., 2008. Antimicrobial resistance in swine production. *Anim Health Res Rev* 9, 135-148.
- Agersø, H., Friis, C., Haugegaard, J., 1998. Water medication of a swine herd with amoxicillin. *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics* 21, 199-202.
- Alali, W.Q., Scott, H.M., Harvey, R.B., Norby, B., Lawhorn, D.B., Pillai, S.D., 2008. Longitudinal study of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* isolates from integrated multisite cohorts of humans and swine. *Appl Environ Microbiol* 74, 3672-3681.
- Almond, G.W., n.d. How much water do pigs need? North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Almond, G.W., sin fecha. How much water do pigs need? North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Aquino, M.H., Filgueiras, A.L., Ferreira, M.C., Oliveira, S.S., Bastos, M.C., Tibana, A., 2002. Antimicrobial resistance and plasmid profiles of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from human and animal sources. *Lett Appl Microbiol* 34, 149-153.
- Baumgartner, A., Kuffer, M., Suter, D., Jemmi, T., Rohner, P., 2007. Antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* strains from human patients, pigs and retail pork in Switzerland. *Int J Food Microbiol* 115, 110-114.
- Bennett, J.V., Brodie, J.L., Benner, E.J., Kirby, W.M.M., 1966. Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. *Applied Microbiology* 14, 170-177.

- Brander, G.C., Pugh, D.M., Bywater, R.J., 1982. *Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics*.
- Brooks, P., Carpenter, J., 1990. *The water requirement of growing-finishing pigs: Theoretical and practical considerations*, Butterworths, Boston.
- Brumm, M., 2006. *Swine Report*. Universidad de Nebraska, pp. 10-13.
- Carr, J., 1994. *Ellanco technical bulletin*.
- Catry, B., Duchateau, L., Van de Ven, J., Laevens, H., Opsomer, G., Haesebrouck, F., De Kruif, A., 2008. Efficacy of metaphylactic florfenicol therapy during natural outbreaks of bovine respiratory disease. *J Vet Pharmacol Ther* 31, 479-487.
- Chamorro, C.A., de Paz, P., Fernández, J.G., Anel, L., 1993. Fungiform papillae of the pig and the wild boar analysed by scanning electron microscopy. *Scan Microsc*. 7, 313-322.
- Delsol, A.A., Randall, L., Cooles, S., Woodward, M.J., Sunderland, J., Roe, J.M., 2005. Effect of the growth promoter avilamycin on emergence and persistence of antimicrobial resistance in enteric bacteria in the pig. *J Appl Microbiol* 98, 564-571.
- Donham, K.J., 1991. Association of environmental air contaminants with diseases and productivity in swine. *Am J Vet Res* 52, 1723-1730.
- FAO, 2000. *Codex Alimentarius. Requisitos generales*. Food & Agriculture Organization.
- Flori, J., Mousing, J., Gardner, I.A., Willeberg, P., Have, P., 1995. Risk factors associated with seropositivity to porcine respiratory coronavirus in Danish swine herds. *Prev Vet Med* 25, 51-62.
- Fontanillas, R., Roura, E., n.d. Palatabilidad y consumo alimentario en el cerdo: de la percepción sensorial a las mejoras productivas. *Lucta*, 1-15.
- Foster, T., 2008. *Veterinary dosage forms: Formulation development and performance testing*, USP annual scientific meeting. United States Pharmacopeia, Kansas City, Missouri.
- Franca, T.S., Carlson, S.A., Rauser, D.C., Jones, B.D., Fergen, B.J., Griffith, R.W., 2004. Effects of microcin 24-producing *Escherichia coli* on shedding and multiple-

antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* serotype typhimurium in pigs. *Am J Vet Res* 65, 1616-1620.

Gallay, A., Prouzet-Mauleon, V., Kempf, I., Lehours, P., Labadi, L., Camou, C., Denis, M., de Valk, H., Desenclos, J.C., Megraud, F., 2007. *Campylobacter* antimicrobial drug resistance among humans, broiler chickens, and pigs, France. *Emerg Infect Dis* 13, 259-266.

Goatcher, W.D., Curch, D.C., sin fecha. Review of some nutritional aspects of the sense of taste. Oregon State University, Corvallis.

Hayes, J.M., Eichman, J., Katz, T., Gilewicz, R., 2003. Stability of florfenicol in drinking water. *J AOAC Int* 86, 22-29.

Hayes, J.M., Gilewicz, R., Freehauf, K., Fetter, M., 2009. Assay of florfenicol in swine feed: interlaboratory study. *J AOAC Int* 92, 340-347.

Hendriksen, R.S., Mevius, D.J., Schroeter, A., Teale, C., Jouy, E., Butaye, P., Franco, A., Utinane, A., Amado, A., Moreno, M., Greko, C., Stark, K.D., Berghold, C., Myllyniemi, A.L., Hoszowski, A., Sunde, M., Aarestrup, F.M., 2008. Occurrence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens and indicator bacteria in pigs in different European countries from year 2002 - 2004: the ARBAO-II study. *Acta Vet Scand* 50, 19.

Herradora, L.M., Martinez-Gamba, R., 2003. Effect of oral enrofloxacin and florfenicol on pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 50, 259-263.

Jawetz, E., Brooks, G.F., Melnick, J.L., Butel, J.S., Morse, S.A., 2002. *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. El Manual Moderno, México.

Jiang, H.X., Zeng, Z.L., Chen, Z.L., Liu, J.J., Fung, K.F., 2006. Pharmacokinetics of florfenicol in pigs following intravenous, intramuscular or oral administration and the effects of feed intake on oral dosing. *J Vet Pharmacol Ther* 29, 153-156.

Jorsal, S.E., Thomsen, B.L., 1988. A cox regression analysis of risk factors related to *Mycoplasma suis* pneumoniae reinfection in Danish spf-herds. *Acta Vet Scand (suppl)* 84, 436-437.

Kadlec, K., Ehricht, R., Monecke, S., Steinacker, U., Kaspar, H., Mankertz, J., Schwarz, S., 2009. Diversity of antimicrobial resistance pheno- and genotypes of methicillin-

resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from diseased swine. *J Antimicrob Chemother* 64, 1156-1164.

Kasiakou, S.K., Lawrence, K.R., Choulis, N., Falagas, M.E., 2005. Continuous versus Intermittent Intravenous Administration of Antibacterials with Time-Dependent Action: A Systematic Review of Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Parameters. *Drugs* 65, 2499-2511.

Kijima-Tanaka, M., Ishihara, K., Morioka, A., Kojima, A., Ohzono, T., Ogikubo, K., Takahashi, T., Tamura, Y., 2003. A national surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from food-producing animals in Japan. *J Antimicrob Chemother* 51, 447-451.

Leibbrandt, V.D., Johnston, L.J., Shurson, G.C., D., C.J., Libal, G.W., Arthur, R.D., 2001. Effect of nipple drinker water flow rate and season on performance of lactating swine. *Journal of Animal Science* 79, 2770-2775.

Li, J.Z., Fung, K.F., Chen, Z.L., Zeng, Z.L., Zhang, J., 2002. Tissue pharmacokinetics of florfenicol in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 27, 265-271.

Liu, J., Fung, K.F., Chen, Z., Zeng, Z., Zhang, J., 2003. Pharmacokinetics of florfenicol in healthy pigs and in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 47, 820-823.

Nagai, M., Hachimura, K., Takashi, K., 1994. Water consumption in suckling pigs. *Journal of Veterinary Medicine Science* 56, 181-183.

National Research Council, 1988. Nutrient requirements of swine. National Academic Press, Washington, DC.

Nienaber, J.A., Hahn, G.L., 1984. Effects of water flow restriction and environmental factors on performance of nursery-age pigs. *J. Anim Sci.* 59, 1423-1429.

Padungton, P., Kaneene, J.B., 2003. *Campylobacter* spp in human, chickens, pigs and their antimicrobial resistance. *J Vet Med Sci* 65, 161-170.

Paige, J.C., Tollefson, L., Miller, M.A., 1999. Health implications of residues of veterinary drugs and chemicals in animal tissues. *Vet. Clin. North. Am. Food Practice* 15, 31-43.

- Parfet, R.K.A., Gonyuo, H.W., 1991. Attraction of new born piglets to auditory, visual, olfactory, and tactile stimuli. *Journal of Animal Science* 69, 125-133.
- Park, B.K., Lim, J.H., Kim, M.S., Hwang, Y.H., Yun, H.I., 2008. Pharmacokinetics of florfenicol and its metabolite, florfenicol amine, in dogs. *Res Vet Sci* 84, 85-89.
- Pijpers, A., 1992. The influence of diseases on feed and water consumption and on pharmacokinetics of orally administered oxytetracycline in pigs. University of Utrecht, The Netherlands.
- Priebe, S., Schwarz, S., 2003. In vitro activities of florfenicol against bovine and porcine respiratory tract pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 47, 2703-2705.
- Quiles, A., Hevia, M., 2006. Suministro de agua. Universidad de Murcia, España, pp. 1-5.
- Rooney, K.A., Nutsch, R.G., Skogerboe, T.L., Weigel, D.J., Gajewski, K., Kilgore, W.R., 2005. Efficacy of tulathromycin compared with tilmicosin and florfenicol for the control of respiratory disease in cattle at high risk of developing bovine respiratory disease. *Vet Ther* 6, 154-166.
- Rosengren, L.B., Waldner, C.L., Reid-Smith, R.J., Dowling, P.M., Harding, J.C., 2007. Associations between feed and water antimicrobial use in farrow-to-finish swine herds and antimicrobial resistance of fecal *Escherichia coli* from grow-finish pigs. *Microb Drug Resist* 13, 261-269.
- Russell, I.D., 1992. Water medication with good water systems. *Poultry Digest* 40.
- SAS, 2007. JMP. SAS Institute Inc.
- Schiffman, S.S., Zervakis, J., Westall, H.L., Graham, B.G., Metz, A., Bennett, J.L., Heald, A.E., 2000. Effect of antimicrobial and anti-inflammatory medications on the sense of taste. *Physiol Behav* 69, 413-424.
- Schwarz, S., Kehrenberg, C., Doublet, B., Cloeckaert, A., 2004. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiology Reviews* 28, 519-542.
- Shin, S.J., Kang, S.G., Nabin, R., Kang, M.L., Yoo, H.S., 2005. Evaluation of the antimicrobial activity of florfenicol against bacteria isolated from bovine and porcine respiratory disease. *Veterinary Microbiology* 106, 73-77.
- Straw, B.E., Taylor, D.J., 2006. Diseases of swine. Wiley-Blackwell, EU.

- Sumano, L.H., Caballero, C.H.S., 1997. Influencia de los antimicrobianos sobre la respuesta inmune, XXXII Congreso Nacional de las Asociaciones Mexicanas de Medicina Veterinaria Especializada Española en Cerdos, Ixtapa Zihuatanejo, Guerrero, México.
- Sumano, L.H., Negrón, G.G., Fernández, S.G., 2000. Consideraciones prácticas y farmacológicas para la medicación de antibacterianos en avicultura. Una revisión. *Revista Científica, FCV-LUZ X*, 251-266.
- Tang, X., Zhao, Z., Hu, J., Wu, B., Cai, X., He, Q., Chen, H., 2009. Isolation, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in China. *J Clin Microbiol* 47, 951-958.
- Torrey, S., Widowski, T.M., 2006. A note on piglets preferences for drinker types at two weaning ages. *Applied Animal Behavior Science* 100, 333-341.
- Ueda, Y., Ohtsuki, S., Narukawa, N., 1995. Efficacy of florfenicol on experimental *Actinobacillus pleuropneumonia* in pigs. *J Vet Med Sci* 57, 261-265.
- Voorspoels, J., D'Haese, E., De Craene, B.A., Vervaeet, C., De Riemaeker, D., Deprez, P., Nelis, H., Remon, J.P., 1999. Pharmacokinetics of florfenicol after treatment of pigs with single oral or intramuscular doses or with medicated feed for three days. *Vet Rec* 145, 397-399.
- Wallgren, P., Segall, T., Pedersen Mørner, A., Gunnarsson, A., 1999. Experimental infections with *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs--II. Comparison of antibiotics for oral strategic treatment. *Zentralbl Veterinarmed B* 46, 261-269.
- Wallmann, J., 2006. Monitoring of antimicrobial resistance in pathogenic bacteria from livestock animals. *Int J Med Microbiol* 296 Suppl 41, 81-86.
- Zdzislaw, M., Jongbloed, A.W., Lenis, N.P., Vreman, K., 1995. Water in pig nutrition: Physiology, allowances and environmental implications. *Nutrition Research Reviews* 8, 137-164.