

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

**FARMACOCINÉTICA SÉRICA Y CONCENTRACIONES EN
LECHE DE TRES PREPARADOS DE ENROFLOXACINA CON
PROMOTORES DE LA BIODISPONIBILIDAD.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

AQUINO DÍAZ ITZCOATL FELIPE

Asesores:

MVZ M en C PhD LILIA GUTIÉRREZ OLVERA

MVZ ALBERTI NAVARRO ALDO BRUNO

México, D. F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A mi padre Felipe Aquino Hernández por el apoyo que me ha brindado durante mi formación académica. A mis gatos que me inspiraron para convertirme en Medico Veterinario Zootecnista.

AGRADECIMIENTOS

A la MVZ Sara del Carmen Caballero Chacón jefa del departamento de Fisiología y Farmacología de la FMVZ, por haberme permitido hacer uso de las instalaciones y equipo del laboratorio 2317, a mi asesora MVZ Lilia Gutiérrez Olvera y al MVZ Héctor S. Sumano López por guiarme a través de esta investigación y a la MVZ Dinorah Vargas Estrada por su ayuda durante el procesamiento de las muestras en el laboratorio, al CEIPSA y al MVZ Aldo Bruno Alberti Navarro por prestarme a los animales con los que realice esta investigación. Y también a la SEP por la beca de titulación que me otorgó a través del programa nacional de becas para la educación superior.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	15
DISCUSIÓN.....	22
REFERENCIAS.....	26

RESUMEN

AQUINO DÍAZ ITZCOATL FELIPE. Farmacocinética sérica y concentraciones en leche de tres preparados de enrofloxacin con promotores de la biodisponibilidad (bajo la direcci3n de: MVZ M en C PhD Lilia Gutierrez Olvera y MVZ Alberti Navarro Aldo Bruno)

La enrofloxacin (Enro), es uno de los antibacterianos de mayor uso en rumiantes, existe poca informaci3n sobre su farmacocinética y biodisponibilidad en caprinos. La tendencia actual en el área farmacológica es el rediseño de fármacos ya existentes, para que cubran adecuadamente los perfiles de farmacocinética/farmacodinamia (PK/PD), logrando así una mayor efectividad clínica y evitando el desarrollo de cepas resistentes. En el desarrollo de este trabajo se evaluó la farmacocinética sérica de enrofloxacin y sus concentraciones en leche al momento del ordeño (dos ordeños por día) de dos preparados con ciclodextrinas (CD) β y γ . Se utilizaron 18 cabras en etapa de lactaci3n divididas en 3 grupos: grupo A: Enro + CD β ; Grupo B: Enro + CD γ y Grupo C: un preparado comercial de larga acci3n (LA) sin CD, como comparativo. Las concentraciones séricas y en leche de la enrofloxacin se determinaron por un método microbiológico de actividad/concentraci3n. El grupo C obtuvo la mayor concentraci3n plasmática de 3.79 $\mu\text{g/mL}$ los grupos A y B lograron concentraciones de 1.53 $\mu\text{g/mL}$ y 2.48 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Las concentraciones en leche fueron de 3.51 $\mu\text{g/mL}$, 2.67 $\mu\text{g/mL}$ y 1.22 $\mu\text{g/mL}$ para cada uno de los grupos. Los tres grupos mantuvieron concentraciones en leche durante los dos primeros ordeños. Los preparados diseñados lograron concentraciones terapéuticas para bacterias sensibles durante 24 h.

INTRODUCCIÓN.

Generalidades de enrofloxacin.

La enrofloxacin [1-(ciclopropilo)-7-(etilo-1-piperazinilo)-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-3-ácido quinolincarboxílico] es un derivado fluorinado del núcleo quinolinoácido carboxílico que fue desarrollado para uso exclusivo en medicina veterinaria. Es una fluoroquinolona de tercera generación con capacidad bactericida, el flúor en la posición 6, un radical metilo-piperazinilo-1 en la posición 7 y un ciclopropilo en la posición 1, distinguen a las quinolonas de tercera generación, la presencia de estos radicales les dan la propiedad de lograr el doble de la concentración plasmática en comparación a los agentes de segunda generación y hasta 100 veces mayor penetración bacteriana.^{1,2,3} Es un antibacteriano de amplio espectro, excelente contra bacterias Gram negativo y bueno contra algunas bacterias Gram positivo y micoplasmas. No tiene efecto contra anaerobios. Es activa contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus suis*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Brucella canis*, *Chlamydia psitacci*, *Enterobacter* sp., *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma* sp. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus intermedius*. *Haemophilus somnus*, *Manheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*, incluso algunas bacterias resistentes a quinolonas de primera y segunda generación, β -lactámicos, sulfonamidas, aminoglicósidos, tetraciclinas y macrólidos

además de tener buena actividad contra micoplasmas, aún a muy bajas concentraciones (CMI = 0.01-0.5 µg/ml) y también activa vs. bacterias intracelulares.^{4,5,6,7}

La enrofloxacin, a diferencia de las quinolonas no fluoradas, actúa tanto sobre la unidad A como sobre la B de la topoisomerasa II (ADN-girasa), una enzima vital para la replicación de los ácidos nucleicos bacterianos.⁶ En un ciclo de reacción de superenrollamiento, la ADN girasa une e hidroliza dos moléculas de ATP, con una velocidad intrínseca de hidrólisis de ATP generalmente baja, donde la actividad de ATPasa es estimulada por la presencia de ADN. Las moléculas de enrofloxacin, unidas en complejos tetraméricos, se acoplan a las hebras de ADN y a determinados puntos de las subunidades A y B de la topoisomerasa II (ADN-girasa), estabilizan el complejo ternario de girasa ADN-fluoroquinolona-ADN, impidiendo su reversión; cuando este efecto es bloqueado, se abaten procesos metabólicos diversos que incluyen la respiración; la división celular y otros procesos celulares como el mantenimiento de la integridad de la membrana, esto desemboca en la lisis celular. El equivalente mamífero de la ADN-girasa no se ve afectado por la enrofloxacin. Estas características de la enrofloxacin le confieren una actividad selectiva para procariontes, para la cual las bacterias tienen escasos mecanismos de resistencia.^{6,8}

Farmacocinética de enrofloxacin.

Se ha determinado el comportamiento farmacocinético de la enrofloxacin en rumiantes, cerdos, conejos, gatos, pollos, pavos y perros. En todas estas especies, la enrofloxacin ha demostrado buena absorción y biodisponibilidad

tras la administración oral y parenteral, con las predecibles variaciones farmacocinéticas entre especies.^{4,9} (Vease cuadro 1).

Cuadro 1: Algunos parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin en especies domésticas.

Especie	Dosis y vía.	C_{max} (µg/ml)	Tmax (horas)	Vd(ss) (L/kg)	t_{1/2}β (h)	MRT (h)	Ref.
Bovinos	5 mg/Kg i.v.	-	-	2.1	1.09	4.28	10
Bovinos	5 mg/Kg i.m.	0.73	2.40	-	5.90	7.98	11
Bovinos	5 mg/Kg s.c.	0.98	3.20	-	5.55	8.4	11
Ovinos	2.5mg/kg i.v.	-	-	3.02	3.73	5.36	12
Ovinos	2.5mg/kg i.m.	0.78	1.25	3.03	3.65	5.23	12
Caprinos	5 mg/kg i.m.	2.8	0.88	1.52	1.39	2.37	9
Caprinos	5 mg/Kg i.v.	0.66	1.1	4.61	2.39	2.73	4
Cerdos	2.5mg/kg i.m.	0.61	2.25	-	13.12	19.16	13
Cerdos	2.5mg/kg i.v.	-	-	2.66	7.73	9.75	13
Pollos	10 mg/kg PO	2.44	1.64	4.41	14.23	15.30	14
Pollos	10 mg/kg i.v.	-	-	2.77	10.29	9.65	14
Perros	5 mg/kg PO	1.44	1.8	2.6	2.7	4.5	15
Perros	5 mg/kg i.v.	-	-	3.7	4.4	5.4	15
Gatos	5 mg/kg i.v.	-	-	4.0	6.7	8.6	16
Gatos	5 mg/kg PO	1.66	0.6	3.1	6.2	8.7	16
Conejos	5 mg/kg PO	0.45	2.3	-	2.41	8.46	17
Conejos	5 mg/kg i.m.	1.9	0.41	-	2.4	-	18
Conejos	5 mg/kg i.v.	-	-	4.8	3.0	-	18
Pavos	10 mg kg PO	1.22	6.33	3.66	6.92	11.91	19
Pavos	10 mg kg i.v.	-	-	3.57	6.64	8.96	19

Tmax: Tiempo en que se alcanza la máxima concentración; C_{max}: Máxima concentración plasmática; Vd: Volumen de distribución; T _{1/2} β: Semivida de eliminación; MRT: Tiempo medio de residencia.

La enrofloxacin logra una biodisponibilidad cercana al 60% por vía oral y una buena penetración a tejidos. En algunas especies la enrofloxacin se absorbe hasta 80% por vía oral (PO), alcanzando concentraciones pico en 1½-2 h. Los estudios farmacocinéticos han demostrado que las concentraciones de enrofloxacin en el suero y en los tejidos se encuentran muy por arriba de los CMI de la mayoría de los microorganismos Gram negativas sensibles, validando así su eficacia. En la mayoría de las especies se absorbe bien cuando se administra vía parenteral. Tiene un alto volumen de distribución, se le recomienda para casi todas las especies domésticas, incluyendo peces. Entre sus indicaciones destacan las infecciones bacterianas respiratorias y pulmonares, infecciones en piel, urinarias, digestivas, otitis y para micoplasmosis en rumiantes, aves y cerdos. Es parcialmente metabolizada en el hígado convirtiéndose principalmente en ciprofloxacina con la cual se ha demostrado tanto *in vivo* como *in vitro* un efecto sinérgico. La excreción renal es la mayor ruta de eliminación de la enrofloxacin y sus metabolitos, lo que ocurre tanto por filtración como por excreción tubular.^{4,6,20}

A pesar de su amplio uso terapéutico, hay poca información disponible sobre la farmacocinética y biodisponibilidad de enrofloxacin en ovinos y caprinos y su distribución a diversos órganos y tejidos. Algunos estudios han demostrado que existen grandes diferencias de este antibacteriano entre especies, aún entre ovejas y cabras que son considerados como especies estrechamente relacionadas.²¹

Farmacocinética / farmacodinamia de la enrofloxacin.

En cualquier terapia antibacteriana es de suma importancia conocer o tener lo más cercano posible el conocimiento del patógeno implicado y el sitio de infección, lo cual no solamente facilita la decisión terapéutica, nos puede proporcionar una guía para prevenir reinfecciones. Por ello el profesional encargado de aplicar los medicamentos requiere conocer una serie de datos que le permitirán hacer un uso racional de los antibacterianos, y en ese sentido es de suma importancia la relación farmacocinética- farmacodinamia (PK/PD).²²

Los perfiles de actividad antimicrobiana durante un tiempo determinado establecen los regímenes de dosificación, los efectos de las concentraciones sobre la actividad antibacteriana y la magnitud de los tiempos de persistencia del efecto junto con la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB), proporcionan una descripción del tiempo de actividad antibacteriana de una familia antibiótica. Dependiendo de estos perfiles y de la actividad bactericida o bacteriostática se han descrito dos modelos de acción de los antimicrobianos: aquellos que son concentración-dependiente (su acción se relaciona a la concentración plasmática) y aquellos que son tiempo-dependiente (su acción se relaciona al tiempo en que ellos están presentes en concentraciones superiores a la CMI).²³

Las fluoroquinolonas, incluyendo a la enrofloxacin se les considera antibacterianos dependientes de la concentración que logra el fármaco en el sitio de acción de preferencia en un amplio rango de concentraciones de 10 a 12 veces la CMI. A mayor concentración del antibacteriano mayor tasa y extensión de la actividad bactericida. Estos parámetros se subdividen en:

- La efectividad depende de la relación entre la concentración máxima alcanzada por el antibiótico y la CMI del microorganismo que se está tratando (C_{max}/CMI) .

Relación C_{max}/CMI para:

Bacterias Gram positivas = 8 a 10 veces

Bacterias Gram negativas = > de 10 veces

- La efectividad depende del área bajo la curva (AUC) sobre la CMI del microorganismo que se está tratando. Es importante en fármacos con vida media larga o en antibacterianos con diseño de larga acción (LA).

Relación AUC/CMI para:

Bacterias Gram positivas > 100 – 125

Bacterias Gram negativas > 30 - 50

Se ha encontrado que $AUC/CMI < 125$ se puede obtener una efectividad clínica de 42% y microbiológica de 26%, y cuando la relación $AUC/CMI > 125$ la respuesta fue de un 80% y la microbiológica de 82%.

Dado todo lo anterior para obtener una efectividad terapéutica de la enrofloxacin se debe lograr una C_{max} en los sitios de infección de 10 a 12 veces la CMI y/o un valor de AUC/CMI en plasma superior a 125.²²

Enrofloxacin en leche.

Uno de los principales usos de la enrofloxacin en la industria pecuaria y que está encaminado principalmente a rumiantes, es en el control de la mastitis. Esta es considerada como la enfermedad más importante de la industria

lechera a nivel mundial, debido a las grandes pérdidas en producción láctea que ésta ocasiona, principalmente en su presentación subclínica, ya que incide negativamente en la composición de la leche, gastos en servicios veterinarios, medicamentos, descarte de volúmenes de leche por contaminación con agentes antimicrobianos, altos conteos de células somáticas, así como en la calidad de los derivados lácteos.²⁴

Las cabras lecheras son menos propensas a sufrir de mastitis que las vacas lecheras, la información disponible sobre los diferentes tipos de patógenos que producen la enfermedad en cabra son menores que los existentes para la vaca.²⁵ En casos de mastitis de origen bacteriano en cabras se han identificado como agentes causales a: *Staphylococcus aureus*, *Echerichia coli*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Enterobacter aerogenes* y *Mycoplasma* sp.²⁶

Se ha reportado que la CMI de enrofloxacin para *Pasteurella multocida* y *Staphylococcus aureus* es de 0,05 y 0,25 µg/ml, respectivamente⁴ y para patógenos como *Yersinia* sp., *Escherichia coli*, *Haemophilus somnus*, *Moraxella bovis* y *Salmonella* sp. son de 0,008 a 0,06 µg/mL.⁹ Dado todo lo anterior y considerando la relación PK/PD de la enrofloxacin, para obtener una mayor actividad de enrofloxacin en leche se debe lograr una C_{max} de 3 µg/mL en el caso de que se encuentren implicadas bacterias con una MIC de 0.25 µg/mL y de 0.72 µg/mL en bacterias con MIC de 0.06 µg/mL o inferiores. En estudios realizados en bovinos se ha encontrado que a dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin vía IM se logran concentraciones de 2.0-3.0 µg/ml, con las cuales

teóricamente se lograría una actividad terapéutica correcta, sin embargo se sabe que la eficacia de la enrofloxacin es afectada por la presencia de leche hasta en un 70% dado lo cual su actividad terapéutica se ve disminuida.⁹

En el presente estudio se evaluó la distribución de enrofloxacin en suero y leche de cabras con promotores de la biodisponibilidad. Los promotores de la biodisponibilidad elegidos fueron las ciclodextrinas (β y γ). Estos compuestos son carbohidratos cíclicos formados por glucosa unidos mediante enlaces α -(1,4) glucosídicos. Las ciclodextrinas (CD) presentan forma toroidal cuya cavidad muestra propiedades hidrofóbicas y sus bordes exteriores son hidrofílicos. (Véase figura 1).

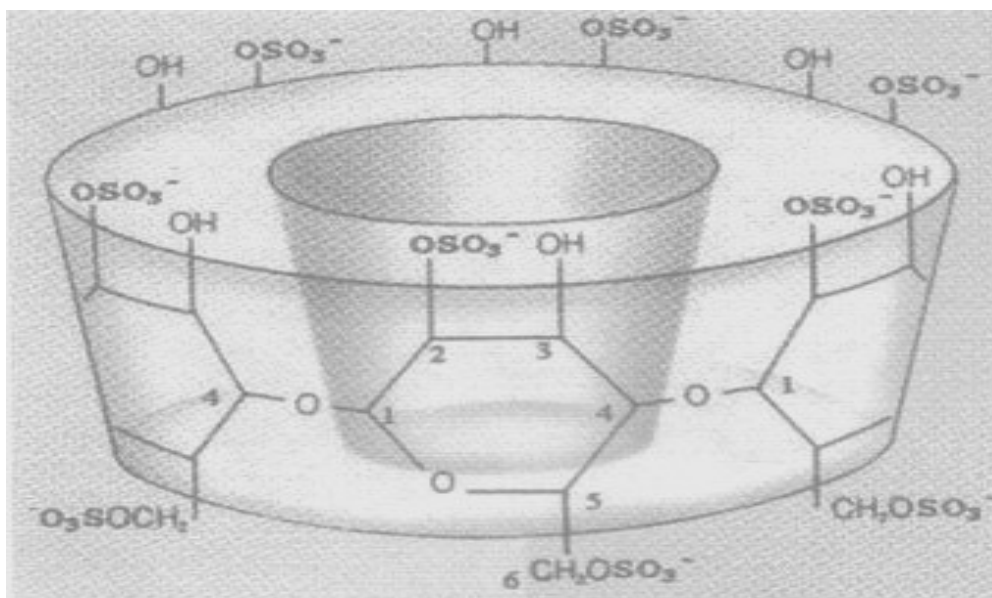


Figura 1.- Forma estructural de las ciclodextrinas. Son carbohidratos cíclicos formados por glucosa unidas mediante enlaces α -(1,4) glucosídicos.

Una de sus propiedades más relevantes es su habilidad para formar complejos de inclusión con una extensa variedad de moléculas, en medio sólido, líquido y con algunos gases,²⁷ el complejo de inclusión atrapa una o más moléculas huésped incluyéndolas en la cavidad de ésta, sin tener lugar enlaces covalente entre ambos.²⁸ Las ciclodextrinas se utilizan como acarreadores de fármacos ya que mejoran algunas propiedades físicas de las moléculas incluidas, tales como la irritabilidad, la inestabilidad del fármaco²⁹ y la solubilidad. Cuenta con diferentes tamaños de cavidades para albergar moléculas de diferente tamaño. La promoción de la biodisponibilidad es debido a que la ciclodextrina afectan el equilibrio del fármaco ionizado y no ionizado ya que el fármaco complejoado en la ciclodextrina es capaz de penetrar las barreras lipofílicas para posteriormente ser liberado y entrar en la circulación sistémica.^{28,30,31} Así mismo reducen la irritación local debido al encapsulamiento que hace la ciclodextrina a la molecula del fármaco en su cavidad, lo cual previene el contacto directo del medicamento con superficies biológicas, así la irritación local disminuye sin afectar los tejidos adyacentes.^{32,33,34}

Las ciclodextrinas han sido objeto de extensos estudios de toxicidad y no han sido asociadas con neurotoxicidad y son reportadas como seguras para uso en formulaciones parenterales.³⁵ Las ciclodextrinas administradas oralmente son metabolizadas por la microflora en el colon y los metabolitos obtenidos son maltodextrina, maltosa y glucosa; que a su vez son metabolizados y excretados como dióxido de carbono y agua. No existe evidencia que sugiera que las ciclodextrinas son mutagenicas o teratogenicas.³⁵

Hipótesis.

El uso de promotores de la absorción tipo ciclodextrina favorece una mayor biodisponibilidad de enrofloxacin en sangre y leche posterior a una administraci3n subcutánea de ambas sustancias.

Objetivos.

Evaluar la farmacocinética sérica y concentraciones en leche de un preparado de enrofloxacin incluido en γ -ciclodextrina como promotor de la biodisponibilidad.

Evaluar la farmacocinética sérica y concentraciones en leche de un preparado de enrofloxacin incluido en β -ciclodextrina como promotor de la biodisponibilidad.

Evaluar la farmacocinética sérica y concentraciones en leche de un preparado de enrofloxacin con polímeros que le proporcionan liberaci3n modificada.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Animales.

Se utilizaron 18 cabras en etapa lactacional en edades que fluctúan de 2 a 4 años, con un peso entre 50 - 55 Kg. Estos animales pertenecen a CEPIPSA (Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal [Avenida Cruz Blanca No. 486, en San Miguel Topilejo, Delegación Tlalpan, C.P. 14500 México, D.F.]). No se requirió de condiciones especiales de alojamiento o alimentación para el desarrollo de esta investigación ya que se mantuvieron las mismas condiciones en las que viven los animales. El alojamiento y la dieta de los animales fueron supervisados por el personal del centro.³⁶

Dosificación.

Se utilizaron 2 preparados de enrofloxacin con ciclodextrinas y un preparado de larga acción (LA) como comparativo:

Grupo A: enrofloxacin 10% + β -ciclodextrina 2%.

Grupo B: enrofloxacin 10% + γ -ciclodextrina 2%.

Grupo C: enrofloxacin 10% LA (Parfarm, enrofloxacin 10% LA).

Tratamiento.

Se lotificaron a los animales en tres grupos de 6 cabras cada uno. Los tres grupos fueron dosificados en el mismo sitio a 10 mg/kg por vía SC, en la región pos-escapular. Todos los animales fueron pesados y dosificados individualmente.

Muestreo.

Se tomó el tiempo de dosificación de cada animal individualmente, las muestras se obtubieron por medio de tubos vacutainer directamente en la yugular, los tiempos de sangrado fueron: 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 24 y 48 horas. Las muestras de leche se colectaron a las 6, 12, 24 y 48 hrs.³⁶

Las muestras de sangre se centrifugaron para separar el suero. Este último se congeló y etiquetó en tubos Eppendorf hasta el momento de su análisis.

Procesamiento de las muestras.

Las concentraciones séricas y en leche de la enrofloxacin se determinaron por un método microbiológico de actividad/concentración propuesto por Bennet et al (1966).

El método microbiológico de difusión en placa Bennet et al (1966), se realizó utilizando a la *Escherichia coli* ATCC 25922 como microorganismo testigo. La linealidad del sistema se obtuvo en los rangos esperados de concentración con un límite de detección de 0.04 µg/ml tanto en leche como en suero. Los halos de inhibición se midieron por medio de un Vernier digital. La regresión lineal obtenida tuvo un coeficiente de correlación de 0.980 utilizando el

software de Origin 6.0. El error intra e interensayo fueron de 4% y 3.5%, respectivamente.²¹

Se utilizó el programa PKAnalyst (Micromath Scientific Software) para obtener las variables farmacocinéticas de las curvas de concentración vs. tiempo tanto para suero como para leche.

Las variables obtenidas fueron: AUC = area bajo la curva; AUMC = area bajo la curva en un momento dado; $AUC_{T=}$ area bajo la curva calculada por método trapezoidal; K_{el} = constante de eliminación; C_{max} = concentración sérica máxima; T_{max} = tiempo al que se logra la concentración sérica máxima; TR= tiempo de retención.

Se obtuvieron los promedios y desviaciones estándar para cada uno de los grupos y de las variables farmacocinéticas evaluadas. Para la evaluación estadística de las variables farmacocinéticas entre grupos se realizó un análisis de varianzas (ANOVA) y la prueba de Bonferroni, t test.

RESULTADOS

En las figura 2 y 3 se muestra la linealidad de el método microbiológico de Bennet et al (1966) para suero y leche, con una recuperación del 95%. En el cuadro 2 se muestran los resultados de los promedios \pm 1 DE de las concentraciones séricas por grupo. En el cuadro 3 se presentan los promedios \pm 1 DE de las variables farmacocinéticas para cada grupo, diferentes literales entre filas denotan diferencias estadísticas en las variables farmacocinéticas por grupo. En el cuadro 4 se presenta la relacion PK/PD obtenida de los tres preparados de enrofloxacin.

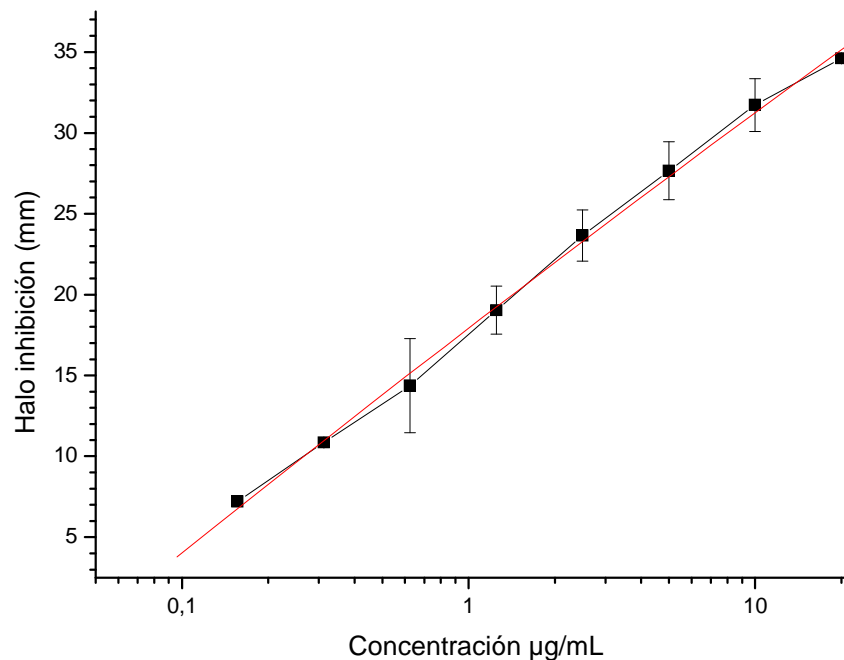


Figura 2.- Linealidad de el método microbiológico de Bennet et al (1966) obtenido para suero.

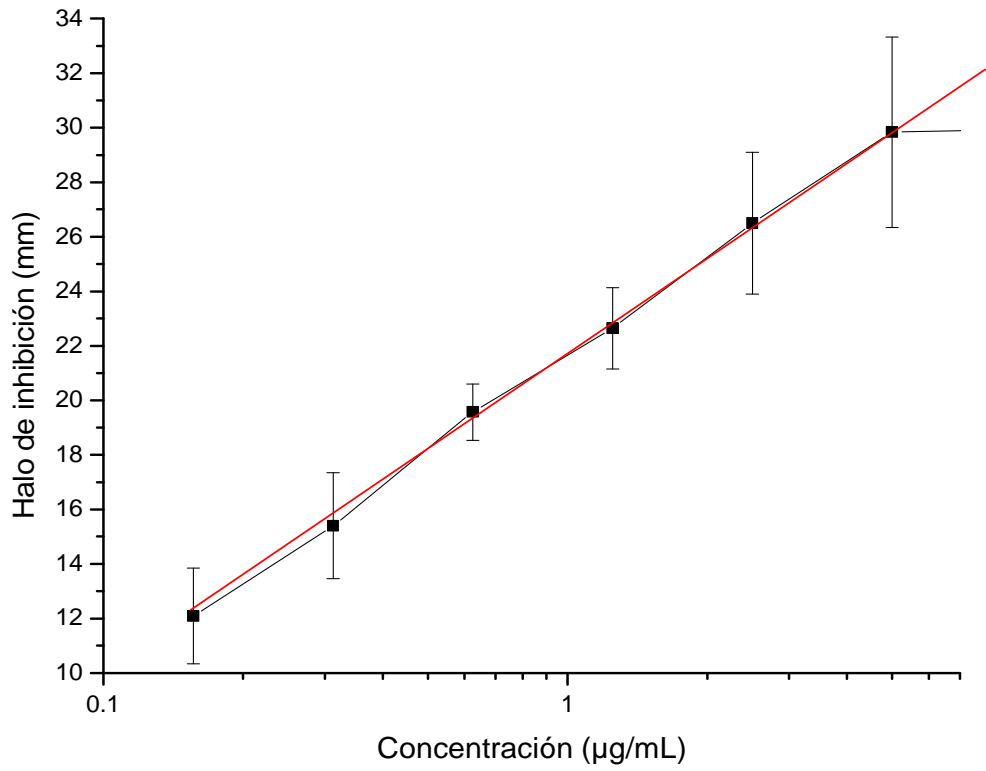


Figura 3.- Linearidad de el método microbiológico de Bennet et al (1966) obtenido para leche.

Cuadro 2: Promedio \pm DE de las concentraciones séricas de enrofloxacin en cabras a razón de 10 mg/Kg. Grupo A: enrofloxacin + β -ciclodextrina al 2% de inclusi3n; Grupo B: enrofloxacin + γ -ciclodextrina al 2% de inclusi3n; Grupo C: enrofloxacin 10% LA (Parfarm, enrofloxacin 10% LA).

Tiempo	Concentraciones de enrofloxacin ($\mu\text{g/mL}$)		
	Grupo A	Grupo B	Grupo C
0,5	0,36 \pm 0,011	0,71 \pm 0,034	0,66 \pm 0,015
1	1,13 \pm 0,074	1,77 \pm 0,118	1,45 \pm 0,055
1,5	1,43 \pm 0,084	2,35 \pm 0,105	1,83 \pm 0,075
2	1,53 \pm 0,077	2,40 \pm 0,121	1,35 \pm 0,094
3	1,47 \pm 0,072	2,45 \pm 0,146	2,49 \pm 0,219
4	1,43 \pm 0,100	2,48 \pm 0,147	3,79 \pm 0,180
5	1,11 \pm 0,063	1,47 \pm 0,072	3,43 \pm 0,156
6	0,90 \pm 0,055	1,40 \pm 0,081	3,08 \pm 0,124
12	0,40 \pm 0,049	0,30 \pm 0,011	0,20 \pm 0,017
24	0,46 \pm 0,035	0,13 \pm 0,011	0,06 \pm 0,098

Cuadro 3. Promedio \pm DE de las variables farmacocinéticas de las concentraciones séricas de enrofloxacin en cabras a razón de 10 mg/Kg. Grupo A: enrofloxacin + β -ciclodextrina al 2% de inclusión; Grupo B: enrofloxacin + γ -ciclodextrina al 2% de inclusión; Grupo C: enrofloxacin 10% LA (Parfarm, enrofloxacin 10% LA).

Variables	Grupo A	Grupo B	Grupo C
AUC	11,18 \pm 0.738 ^a	16,73 \pm 0.927 ^{a,b}	33,33 \pm 1.515 ^b
AUMC	60,87 \pm 4.614 ^a	84,15 \pm 4.829 ^a	252,59 \pm 16.129 ^b
AUC _T	17,33 \pm 1.315 ^a	19,29 \pm 1.023 ^a	29,63 \pm 0.984 ^a
K _{el} (μ g*mL*h)	1,82 \pm 0,207 ^a	1,74 \pm 0.173 ^a	2,53 \pm 0.661 ^b
C _{max}	1,52 \pm 0,861 ^a	2,46 \pm 0.132 ^{a,b}	3,40 \pm 0.123 ^b
T _{max}	2,63 \pm 0,299 ^a	2,51 \pm 0.250 ^a	3,66 \pm 0.954 ^b
TR	5,25 \pm 0,599 ^a	5,03 \pm 0.500 ^a	7,31 \pm 0.190 ^b

AUC = área bajo la curva; AUMC = área bajo la curva en un momento dado; AUC_T = área bajo la curva calculada por método trapezoidal; K_{el} = constante de eliminación; C_{max} = concentración sérica máxima; T_{max} = tiempo al que se logra la concentración sérica máxima; TR = tiempo de retención.

Cuadro 4: Relación PK/PD de enrofloxacin de tres preparados de enrofloxacin. Grupo A: enrofloxacin + β -ciclodextrina al 2% de inclusi3n; Grupo B: enrofloxacin + γ -ciclodextrina al 2% de inclusi3n; Grupo C: enrofloxacin 10% LA (Parfarm, enrofloxacin 10% LA).

	Grupo A	Grupo B	Grupo C
AUC/CMI bacterias sensibles (CMI 0.06 $\mu\text{g/mL}$)	186.33 \geq 125 si	287.83 \geq 125 si	555.5 \geq 125 si
AUC/CMI bacterias medianamente sensibles (CMI 0.25 $\mu\text{g/mL}$)	44.72 \geq 125 no	66.92 \geq 125 no	133.32 \geq 125 si
CMI*12 comparando C_{max} bacterias sensibles (CMI 0.06 $\mu\text{g/mL}$)	0.72 necesario si	0.72 necesario si	0.72 necesario si
CMI*12 comparando C_{max} bacterias medianamente sensibles (CMI 0.25 $\mu\text{g/mL}$)	3 necesario no	3 necesario no	3 necesario si

AUC = 1rea bajo la curva; CMI = concentraci3n minima inhibitoria; C_{max} = concentraci3n s3rica m1xima.

La relaci3n $C_{\text{max}}/\text{CMI}$ que deben alcanzar los preparados de enrofloxacin para tener una actividad terap3utica ante bacterias sensibles es de 0.06 $\mu\text{g/mL}$ multiplicado por 12 (0.72 $\mu\text{g/mL}$), y para bacterias medianamente sensibles deben alcanzar una concentraci3n de 0.25 $\mu\text{g/mL}$ multiplicado por 12 (3 $\mu\text{g/mL}$). En la figura 4 se muestra una comparaci3n de las curvas obtenidas mediante el m3todo microbiol3gico de Bennet et al (1966) en suero, de los tres

preparados de enrofloxacin. En la figura 5 se presenta la concentración en leche de los tres preparados de enrofloxacin.

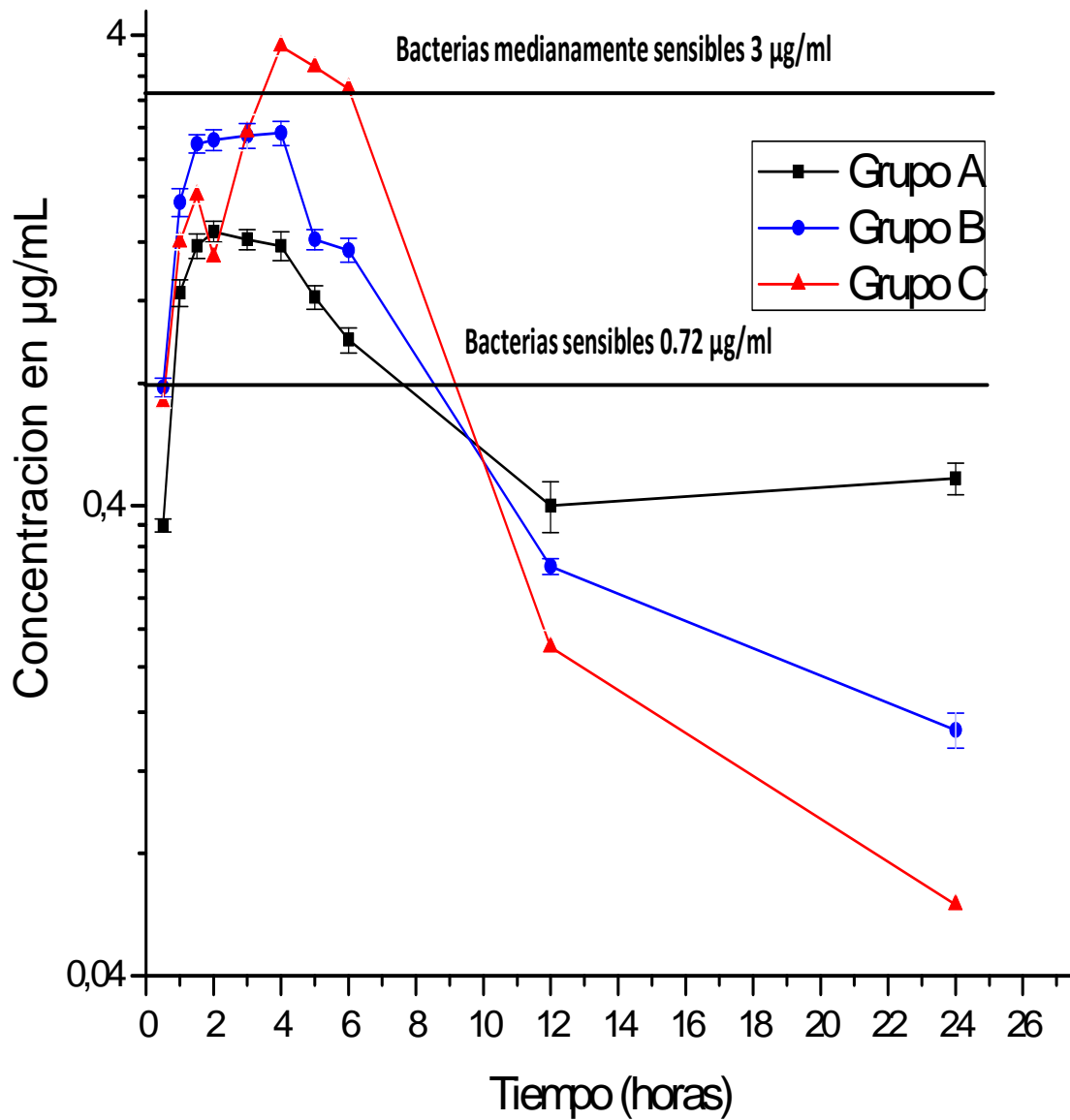


Figura 4.- Perfiles séricos promedio \pm DE de las concentraciones compuestas de la enrofloxacin/ciprofloxacin posteriores a la administración de 10 mg/Kg. de los siguientes preparados: grupo A: enrofloxacin + β -ciclodextrina al 2% de inclusión; grupo B: enrofloxacin + γ -ciclodextrina al 2% de inclusión; grupo C: enrofloxacin 10% LA (Parfarm, enrofloxacin 10% LA).

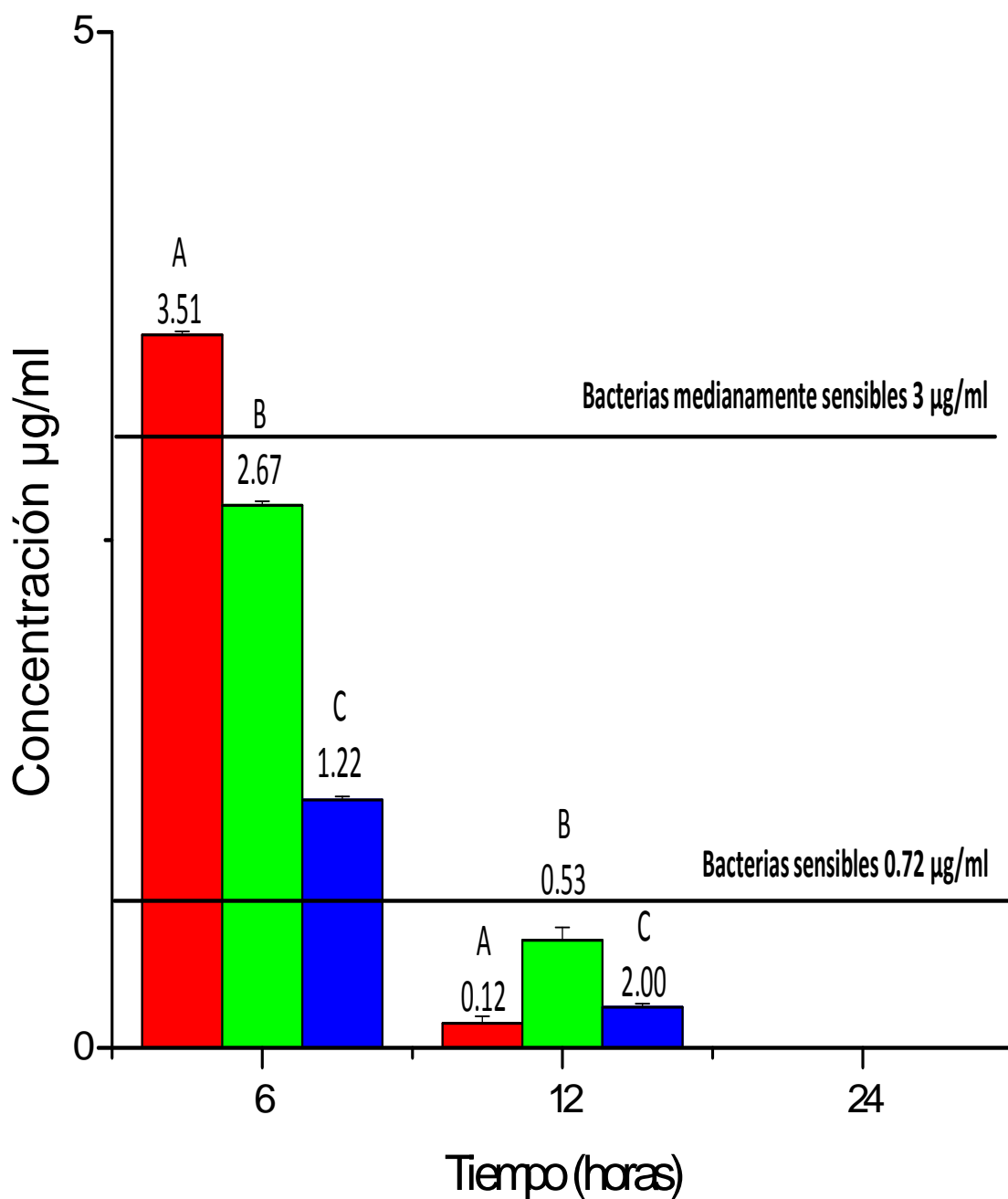


Figura 5.- Barras de frecuencia de la concentración/ actividad de enrofloxacin y metabolito en leche posterior a la inyección de 10 mg/Kg. de 3 preparados: grupo A: enrofloxacin + β -ciclodextrina al 2% de inclusi3n; grupo B: enrofloxacin + γ -ciclodextrina al 2% de inclusi3n; grupo C: enrofloxacin 10% LA (Parfarm, enrofloxacin 10% LA).

DISCUSIÓN.

La metodología analítica elegida puede definirse como cualitativa/cuantitativa pues permite la cuantificación numérica basada en la actividad antimicrobiana y no solamente en la presencia química del principio activo, como ocurre con la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). En el caso particular de la enrofloxacin se está cuantificando adicionalmente la actividad conjunta-sinérgica que tiene con la ciprofloxacina.⁷ De tal suerte que en cierta manera se está sobreestimando la cantidad neta de enrofloxacin en leche y suero. Sin embargo de acuerdo con Küng et al. 1983 existe una elevada confiabilidad analítica en el ensayo por comparación al HPLC. Considerando lo anterior es factible considerar estos resultados como factibles y al mismo tiempo permiten una rápida referencia a la relación PK/PD para un patógeno determinado.

En la terapia antibacteriana es de suma importancia el conocimiento del patógeno implicado y el sitio de infección, lo cual no solamente facilita la decisión terapéutica, sino que además, puede proporcionar una guía para prevenir reinfecciones. También es importante considerar que algunas infecciones bacterianas son secundarias a otras patogenias, lo que implica que la causa puede ser el alimento, el agua, la presencia de plagas como ratas, ratones, insectos nocivos etc., o incluso la presencia de otros animales de compañía. Por tal motivo, el Médico Veterinario encargado de aplicar los medicamentos a los animales requiere conocer una serie de datos para el uso racional de antibacterianos, siendo de suma importancia la relación PK/PD,²²

con base en la relación PK/PD se ha dividido a los antibacterianos en: 1) dependientes de la estancia (tiempo dependiente), y 2) los dependientes de la concentración.²² En otras palabras, para lograr una eficacia óptima, respecto al primer punto, se requieren lograr concentraciones plasmáticas del medicamento hasta 2 a 4 veces por arriba de la concentración mínima inhibitoria (CMI), durante todo el intervalo de dosificación. En contraste los antimicrobianos dependientes de la concentración alcanzan su máxima eficacia clínica cuando las concentraciones pico o C_{max} es por lo menos de 8 a 10 veces el valor de CMI para los aminoglicósidos, y 10 a 12 veces para las fluoroquinolonas.²² En el caso de las fluoroquinolonas, adicionalmente se ha asignado que la relación del área bajo la curva (AUC), dividido entre la CMI del patógeno en cuestión, debe originar un factor superior o igual a 125 ($AUC/CMI \geq 125$).²³ Las fluoroquinolonas, incluyendo a la enrofloxacin son antibacterianos dependientes de la concentración que logra el fármaco en el sitio de acción. A mayor concentración del antibacteriano mayor tasa y extensión de la actividad bactericida.

De acuerdo con los valores farmacocinéticos en suero obtenidos en el presente estudio, la relación AUC/CMI que presentan el grupo A y B, son mayores a 125 en el caso de bacterias sensibles con una CMI de 0.06 $\mu\text{g/mL}$, y menor a 125 en el caso de bacterias medianamente sensibles con una CMI de 0.25 $\mu\text{g/mL}$. Por lo tanto estos preparados de enrofloxacin tienen una efectividad terapéutica en bacterias sensibles. Los valores farmacocinéticos obtenidos en suero del grupo C, presentan una relación AUC/CMI mayor a 125 en el caso de bacterias sensibles con CMI de 0.06 $\mu\text{g/mL}$ y una CMI de 0.25 $\mu\text{g/mL}$ para

bacterias medianamente sensibles, con lo cual se puede predecir que tiene una efectividad terapéutica ante bacterias sensibles y medianamente sensibles.

Al comparar 12 veces la CMI con la C_{max} obtenida en cada uno de los grupos, obtenemos que los tres preparados son mayores a $0.72 \mu\text{g/mL}$ en el caso de bacterias sensibles con una CMI de $0.06 \mu\text{g/mL}$, y solo el grupo C tiene una C_{max} mayor a 3 que se requiere para tener una efectividad terapéutica en bacterias medianamente resistentes con CMI de $0.25 \mu\text{g/mL}$.

En leche, podemos observar que las concentraciones de enrofloxacin en relación a la C_{max}/CMI que se presenta en el grupo A, es mayor a $0.72 \mu\text{g/mL}$ en el caso de bacterias sensibles con una CMI de $0.06 \mu\text{g/mL}$, además es mayor a $3 \mu\text{g/mL}$ en el caso de bacterias medianamente sensibles con una CMI de $0.25 \mu\text{g/mL}$. Por lo tanto podemos predecir que este preparado de enrofloxacin tiene una efectividad terapéutica ante bacterias sensibles y medianamente sensibles, cuando es liberado en leche y alcanza esta efectividad a las 6 horas de haber sido administrado el farmaco. La relación C_{max}/CMI que presentan el grupo B y C, son mayores a $0.72 \mu\text{g/mL}$ en el caso de bacterias sensibles con una CMI de $0.06 \mu\text{g/mL}$, y menor a $3 \mu\text{g/mL}$ en el caso de bacterias medianamente sensibles con una CMI de $0.25 \mu\text{g/mL}$. Por lo tanto estos preparados de enrofloxacin tienen una efectividad terapéutica ante bacterias sensibles, a las 6 horas de haber sido administrado el farmaco y no presentan una efectividad terapeutica ante bacterias medianamente sensibles.

Resumiendo, los resultados obtenidos en este ensayo indican que la adición de ciclodextrinas a preparados con enrofloxacin pueden modificar sustancialmente la biodisponibilidad del principio activo pero, la presencia de

otros elementos no determinados en el preparado comercial evaluado brindan una considerable ventaja en cuanto al valor de C_{max} . Finalmente cabe señalar que es posible modificar la velocidad y magnitud de la enrofloxacin inyectable y en este sentido se proponen estudios adicionales para mejorar las variables de C_{max} y AUC.

REFERENCIAS.

- 1.- Sumano LH, Ocampo CL, Gutierrez OL. Bioequivalence of 9 trade –marks of enrofloxacin and baytril in cows. *Dtsch Tierarzt Woschenschrift* 2001;108:311-4.
- 2.- Rao GS, Ramesh S, Ahmad AH, Tripathi HC, Sharma LD, Malik JK. Disposition kinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin following intravenous administration of enrofloxacin in goats. *Small Ruminant Res* 2002;44:9–15.
- 3.- Sumano LH. [Quinolones and fluoroquinolones in veterinary medicine]. *Esp. Quinolonas y fluoroquinolonas en medicina veterinaria. Vet Mex* 1993;24:83-92.
- 4.- El-Sooud KA. Influence of albendazole on the disposition kinetics and milk antimicrobial equivalent activity of enrofloxacin in lactating goats. *Pharmacol Res* 2003;48:389–395.
- 5.- Posyniak A, Mitrowska K. Analytical procedure for the determination of fluoroquinolones in animal muscle. *Bull Vet Inst Pulawy* 2008;52:427-430.
- 6.- Sumano LH, Gutiérrez O L. [The use of enrofloxacin in poultry medicine in Mexico an overview]. *Esp. Problemática del uso de la enrofloxacin en la avicultura en México. Vet Mex* 2000;2:137-145.
- 7.- Cinquinaa AL, Robertia P, Giannettia L, Longoa F, Draiscib R, Fagioloa A *et al.* Determination of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in goat milk by

high-performance liquid chromatography with diode-array detection optimization and validation. *J Chromatogr A* 2003;987:221–226.

8.- Leyva S, Leyva E. [Fluoroquinolones. Mechanisms of action and resistance, structure, synthesis and physico-chemical reactions important for medicinal properties]. *Esp. Fluoroquinolonas. Mecanismos de acción y resistencia, estructura, síntesis y reacciones fisicoquímicas importantes para propiedades medicinales. Bol Soc Quim Mex* 2008;2:1-13

9.- Rao GS, Ramesh S, Ahmadi AH, Tripathi HC, Sharmat LD, Malik JK. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in goats given enrofloxacin alone and in combination with probenecid. *Vet J* 2002;163:85–93.

10.- Malbe M, Salonen M, Fang W, Ööpik T, Jalakas M, Klaassen M *et al.* Disposition of enrofloxacin (Baytril) into the udder after intravenous and intra arterial injections into dairy cows. *J Vet Med A* 1996;43:377-386.

11.- Kaartinen L, Salonen M, Älli L, Pyörälä S. Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous, intramuscular and subcutaneous injections in lactating cows. *J Vet Pharmacol Ther* 1995;18:357-362.

12.- Mengozzi G, Intorre L, Bertini S, Soldani G. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and intramuscular administration in sheep. *Am J Vet Res.* 1996;57:1040-1043.

- 13.- Richez P, Mörner AP, De Jong A, Monlouis JD. Plasma pharmacokinetics of parenterally administered danofloxacin and enrofloxacin in pigs. *J Vet Pharmacol Ther* 1997;20:41-42.
- 14.- Anadón A, Martínez LMR, Díaz MJ, Bringas P, Martínez MA, Fernandez CML *et al.* Pharmacokinetics and residues of enrofloxacin in chickens. *Am J Vet Res* 1995;56:501-506.
- 15.- Monlouis JD, De Jong A, Limet A, Richez P. Plasma pharmacokinetics and urine concentrations of enrofloxacin after oral administration of enrofloxacin in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 1997;20:61-63.
- 16.- Richez P, Monlouis JD, Dellac D, Daube G. Validation of a therapeutic regimen for enrofloxacin in cats on the basis of pharmacokinetic data. *J Vet Pharmacol Ther* 1997;20:152-153.
- 17.- Broome RL, Brooks DL, Babish JG, Copeland DD, Conzelman GM. Pharmacokinetic properties of enrofloxacin in rabbits. *Am J Vet Res* 1991;52:1835-1841.
- 18.- Elmas M, Üney K, Yazar E, Karabacak A, Tras B. Pharmacokinetics of enrofloxacin following intravenous and intramuscular administration in Angora rabbits. *Res Vet Sci* 2007;82:242–245
- 19.- Dimitrova DJ, Lashev LD, Yanev SG, Pandova B. Pharmacokinetics of enrofloxacin in turkeys. *Res Vet Sci* 2007;82:392–397.
- 20.- Elmas M, Tras B, Kaya S, Bas A, Yazar E, Yarsan E. Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular administration in Angora goats. *Can J Vet Res* 2001;65:64-67.

21.- Elsheikh HA, Taha AAW, Khalafallah AI, Osman IAM. Disposition kinetics of enrofloxacin (Baytril 5%) in sheep and goats following intravenous and intramuscular injection using a microbiological assay. Res Vet Sci 2002;73:125–129.

22.- Liu P, Müller M, Derendorf H. Rational dosing of antibiotics: the use of plasma concentrations versus tissue concentrations. Int J Antimicrob Ag 2002;19:285-/290.

23.- Jacobs M. Combating resistance: application of the emerging science of pharmacokinetics and pharmacodynamics. Int J Antimicrob Ag 2007;30:122–126.

24.- Vento RD, Armenteros AM, Capdevila VJZ. [Characterization of clinical-epidemiological situation of bovine mastitis in first-holstein cows from a dairy specialist]. Esp. Caracterización de la situación clínico-epizootiológica de la mastitis bovina en vacas primerizas holstein de una lechería especializada. Red Vet 2008;9:1695-7504.

25.- Concha BC. La mastitis caprina. Memorias del seminario Internacional Producción de Leche Caprina: “del establo a la mesa”; 2005 noviembre 9-11; Chillán Chile. Disponible en <http://www.scribd.com/doc/2222100/Leche-Cabra->

26.- Clavijo A, Meléndez B, Clavijo M, Godoy A, Santander J . [Effect of operating system on the occurrence of mastitis in goats at two farms in Falcon state, their etiologic agents and antimicrobial resistance]. Esp. Efecto del

sistema de explotación sobre la aparición de mastitis caprina en dos fincas del estado Falcón, sus agentes etiológicos y la resistencia a antimicrobianos. *Zootec Trop* 2002;20:383-395.

27.- Khor E, Lim LY. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials* 2003;24:2339-2349.

28.- Tanaka Y, Tanioka S, Tanaka M, Tanigawa T, Kitamura Y, Minami S *et al.* Effects of chitin and chitosan particles on BALB/s mice by oral and parenteral administration. *Biomaterials* 1997;18:591-595.

29.- Khan AT. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2002;5:205-212.

30.- Escobar LL. Interacciones no covalentes analgésicos antiinflamatorios / ciclodextrinas (tesis de doctorado en ciencias químicas). Coyoacán (D.F.) México: Facultad de Química UNAM, 1998.

31.- Szeman J, Stadler-Szoke A, Vikmon M, Szejtli J. Stabilization of prostacyclin and furosemide by cyclodextrins. *Chem Abstracts* 1988:108,392.

32.- Brewster ME, Sompkins JW. The potential use of cyclodextrins in parenteral formulations. *J Parenter Sci Technol* 1989;43:231-240.

33.- Loftsson T, Duce D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int J Pharm* 2006.

34.- Szejtli J. Molecular entrapment and release properties of drugs by cyclodextrins. In: Controlled drug bioavailability. Smolen EVF, Ball LA, editors. New York: John-Wiley and sons, 1985:365-421.

35 - Wade A, Weller PJ, editors. Handbook of pharmaceutical excipients. 2nd ed. Washington: American Pharmaceutical Association, 1994.

36.- Haritova A, Lashev L, Pashov D. Pharmacokinetics of enrofloxacin in lactating sheep. Res Vet Sci 2003;74:241–245.