



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA Y FARMACOLOGÍA
VETERINARIA**



**EVALUACIÓN DE UN PREPARADO FARMACÉUTICO DE
FLORFENICOL-ALGINATO PARA OPTIMIZAR SU
FARMACOCINÉTICA EN CERDOS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A

NANCY KARINA MIJARES GONZÁLEZ

A S E S O R E S

**DRA. LILIA GUTIÉRREZ OLVERA
DR. HÉCTOR SALVADOR SUMANO LÓPEZ**



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.

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	3
ÍNDICE DE FIGURAS.....	5
RESUMEN.....	7
I. INTRODUCCIÓN	9
II. JUSTIFICACIÓN.....	10
III. FLORFENICOL.....	13
a. Terapéutica	14
b. Farmacocinética	15
c. Farmacodinamia.....	18
d) Uso clínico en cerdos	19
IV. FLORFENICOL CON RECUBRIMIENTO DE ALGINATO EN PELLETS TIPO FOLA	21
V. HIPÓTESIS	22
VI. OBJETIVO	22
VII. MATERIAL Y MÉTODOS.....	23
VIII. RESULTADOS.....	32
IX. DISCUSIÓN.....	41
X. CONCLUSIÓN	43
XI. LITERATURA CITADA.....	43
XII. ANEXOS	49

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
1. Características generales florfenicol. Tomado de Sumano et al. (14)	13
2. Concentraciones mínimas inhibitorias del Florfenicol obtenidos del aislamiento de infecciones respiratorias naturales de cerdos (Adaptado de Merck Animal Health) (18)	15
3. Valores cinéticos del florfenicol en cerdos a dosis de 15 mg/kg por vía IM y VO Obtenido de Sumano et al. (14)	17
4. Formulaciones farmacéuticas de florfenicol a nivel internacional (Adaptado de: Veterinary Information Network) (23)	20
5. Relación de número de cerdos/ número de tomas de muestra de sangre por tiempo para conformar tres corridas de farmacocinética de florfenicol en un modelo tipo naive pooled sampling (25).	25
6. Variables farmacocinéticas	31
7. Concentraciones/actividades ($\mu\text{g}/\text{mL}$) individuales de florfenicol en suero de cerdos dosificados con el preparado de referencia en cg/mL	33
8. Concentraciones/actividades ($\mu\text{g}/\text{mL}$) individuales de florfenicol en suero de cerdos dosificados con el preparado tipo FOLA.	34
9. Promedio concentración en suero de Florfenicol referente vs. FOLA a lo largo del estudio ($\mu\text{g}/\text{mL}$).	35
10. Parámetros farmacocinéticos individuales del suero Florfenicol - referente, obtenidos de PKStimulation 2.0.	36
11. Parámetros farmacocinéticos promedio del suero Florfenicol – referente, obtenidos en PKStimulation 2.0	37

12. Parámetros farmacocinéticos individuales del suero FOLA, obtenidos en PKStimulation 2.0	37
13. Parámetros farmacocinéticos promedio del suero FOLA, obtenidos en PKStimulation 2.0	38
14. Parámetros farmacocinéticos orales de florfenicol en cerdos tras dosificarlos vía oral forzada con el florfenicol de referencia (F-r) o con el prototipo de florfenicol en alginato e incluido en FOLAs (FI-a-FOLA) a razón de 10 mg/kg.	38

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
1. Concentraciones medias \pm 1 DE de florfenicol posterior a la administración de dos preparados de florfenicol en el agua de bebida a cerdos sanos a dosis inicial de 12.5 mg/kg. Adaptado de Gutiérrez <i>et al</i> (3).	12
2. Modelo químico-estructural y molecular del florfenicol (17)	15
3. Perfiles de las concentraciones plasmáticas de florfenicol en cerdos por vía IM y VO dosis de 15 mg/kg. Obtenido de Sumano et al. (14)	19
4. Instalaciones del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión de Producción Porcina (CEIEPP-FMVZ/UNAM). Fotografía: obtenida Secretaría de Medicina, Zootecnia y Extensionismo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. CEIEPP (24).	24
5. Pasos para la correcta toma de muestra sanguínea en cerdos - <i>Swine Medicine Education Center y Iowa State University</i> . (28).	29
6. Media \pm 1 DE de las actividades/concentraciones $\mu\text{g/mL}$ de florfenicol referente en cerdos que recibieron una dosis en bolo de 10mg/kg	34
7. Media \pm 1 DE de las actividades/concentraciones ($\mu\text{g/mL}$) de florfenicol en suero de cerdos medicados con florfenicol en FOLA a una dosis en bolo de 10mg/kg	35
8. Concentración promedio de florfenicol en suero de cerdos durante las primeras 12 h post – administración, dosificados con el preparado de referencia a las dosis ya descritas de 10 mg/kg.	36
9. Concentración $\mu\text{g/mL}$ promedio del suero de cerdos FOLA durante las primeras 12 h post – administración	37

10. Concentraciones/actividades de florfenicol a nivel sérico en cerdos, habiendo dosificado en bolo (10 mg/kg) el florfenicol y considerando dos presentaciones farmacéuticas: el preparado referente comercial de Nuflor Premix® y un prototipo a base de alginato e incluido en pellets tipo FOLA (FI-a-FOLA).	40
11. Regresión lineal Semilog ₁₀ de florfenicol vs. halo de inhibición para <i>Actinobacillus</i> 6633, de acuerdo con lo descrito por Bennet (29)	41
12. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #1 con el preparado de referencia a dosis de 10 mg/kg	50
13. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #2 con el preparado de referencia a dosis de 10 mg/kg	50
14. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #3 con el preparado de referencia a dosis de 10 mg/kg	51
15. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #4 con el preparado de referencia a dosis de 10 mg/kg	51
16. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #1 con el preparado FOLA a dosis de 10 mg/kg	52
17. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #2 con el preparado FOLA a dosis de 10 mg/kg	52
18. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #3 con el preparado FOLA a dosis de 10 mg/kg	53
19. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #4 con el preparado FOLA a dosis de 10 mg/kg	53

RESUMEN

Nancy Karina Mijares González. Evaluación de un preparado farmacéutico de florfenicol-alginato para optimizar su farmacocinética en cerdos: Bajo la dirección Dra. Lilia Gutiérrez Olvera, Dr. Héctor Sumano Salvador López.

Dada la tendencia mundial al incremento en resistencias bacterianas resultó procedente proponer un modelo farmacéutico potencialmente innovador, el cual optimice las relaciones farmacocinéticas-farmacodinámicas (PK/PD) dado su diseño para liberación modificada/larga acción. El florfenicol es un antibiótico tiempo dependiente. Por lo tanto, es recomendable que deba estar biodisponible en suero por el mayor tiempo posible entre intervalos de dosificación o por arriba de las concentraciones mínimas inhibitorias de agentes patógenos en cerdos. En este ensayo se realizó una curva cinética de las concentraciones de un preparado de florfenicol – alginato (FOLA; F = biodisponibilidad; O = óptima; LA = larga acción) en pellets elaborado en la FMVZ (UNAM) y se comparó con un medicamento comercial referente en el ámbito de producción porcina. Se incluyeron 8 cerdos de 10 kg, divididos en dos grupos, la dosis de ambos medicamentos fue de 10 mg/kg vía oral, se utilizó un método cuantitativo/cualitativo microbiológico basado en el diámetro del halo de inhibición. El grupo que recibió la FOLA logró una concentración máxima en suero 7.6 veces más alta que el medicamento comercial (6.9 µg/mL frente a 0.9 µg/mL) con un tiempo de estancia en el organismo más largo, mantuvo una AUC de (0.11 vs. 0.62 µg/mL/h), existe diferencia estadística significativa con una $P < 0.05$. Estos valores favorecen al diseño innovador, el cual muestra una farmacocinética superior y, por lo tanto, una mejor relación PK/PD la cual está orientada a resultados clínicos eficaces, disminución de manejo en granja y reducción de días de tratamiento, contribuyendo así a un tratamiento metafiláctico y a la disminución de resistencia bacteriana. Se propone una segunda etapa experimental en campo.

Palabras clave: florfenicol, cerdos, farmacocinética, enfermedad respiratoria.

ABSTRACT

Given the global trend of increasing bacterial resistance, it was pertinent to propose a potentially innovative pharmaceutical model designed to optimize pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships (PK/PD) through modified/extended release. Florfenicol is a time-dependent antibiotic, and thus, it is advisable for it to remain bioavailable in serum for as long as possible between dosing intervals or above the minimum inhibitory concentrations of pathogens in pigs. In this assay, a kinetic curve of concentrations was conducted for a florfenicol-alginate preparation (FOLA; F = bioavailability; O = optimal; LA = long-acting) in pellets formulated at the FMVZ (UNAM), and it was compared with a reference commercial drug in the field of swine production. Eight 10 kg pigs, divided into two groups, received a dose of 10 mg/kg orally for both medications. A quantitative/qualitative microbiological method based on the inhibition halo diameter was employed. The FOLA group achieved a serum peak concentration 7.6 times higher than the commercial drug (6.9 $\mu\text{g/mL}$ vs. 0.9 $\mu\text{g/mL}$) with a longer residence time in the organism, maintaining an AUC of (0.11 vs. 0.62 $\mu\text{g/mL/h}$). There is a statistically significant difference with $P < 0.05$. These values favor the innovative design, which demonstrates superior pharmacokinetics and, consequently, a better PK/PD relationship geared towards effective clinical outcomes, reduced on-farm management, and shorter treatment durations. This contributes to a metaphylactic approach and the reduction of bacterial resistance. This proposal should undergo a second experimental phase in the field.

Keywords: florfenicol, pigs, pharmacokinetics, respiratory disease.

I. INTRODUCCIÓN

Es una realidad mundial que los antibióticos de muchas clases en la medicina humana todavía se administran a cerdos, una excepción es el florfenicol, un derivado del grupo de los fenicoles (cloranfenicol, tianfenicol y florfenicol) de uso exclusivo en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Dada la tendencia mundial al incremento en resistencias bacterianas tanto en el ámbito de la medicina humana como en la veterinaria y la falta de nuevos grupos antibióticos, resulta procedente realizar investigación que optimice las relaciones farmacocinéticas-farmacodinámicas (PK/PD) de los principios activos que son de uso exclusivo para la veterinaria, en este caso del florfenicol.

A finales de la década de los 90's se desarrolló el uso del florfenicol en forma inyectable en el mundo y se propuso una dosis de 20 mg/kg de un preparado larga acción (LA), con 48, máximo 72 h de concentraciones plasmáticas útiles en cerdos, el preparado farmacéutico se denominó Nuflor®, antes elaborado por Schering de México y ahora MSD Salud Animal (1). Posteriormente y tras un estudio de eficacia preventiva del florfenicol en premezcla a dosis de 20 a 40 ppm, se consideró suficiente la evidencia presentada como para aceptar su uso en la producción porcina en Latinoamérica (2). Sin embargo, la dosis individual lograda en cerdos de, por ejemplo, 10 kg es de tan solo 1 – 2 mg/kg, considerando un 5% de consumo de alimento con respecto a su peso corporal. Esta presentación de premezcla de florfenicol (Nuflor Premix®, MSD Salud Animal) no se utiliza en el resto del mundo, lo que se comercializa para cerdos es el florfenicol previamente solubilizado en N-2-metilpirrolidona (Pharmasolve®) para administrarse vía agua de bebida, tratando de lograr dosis de aproximadamente 12.5 mg/kg, con base en consumo de agua normal de un cerdo (100 a 120 mL/kg/día). No obstante, se sabe que el cerdo rechaza el agua medicada y las dosis reales disminuyen día a día hasta apenas lograrse una dosis de 2-5 mg/kg al tercer día.

Con estas dosis se determinó que apenas se lograban concentraciones de cierta utilidad contra algunos patógenos de elevada sensibilidad como el *Actinobacillus pleuropneumoniae*. No obstante, es poco factible que se logren concentraciones útiles contra *Escherichia coli*, *Bordetella bronchiseptica*, *Streptococcus suis* o *Salmonella suis* (3,4) (véase Figura 1). Como mencionan Gutiérrez *et al.* (2011) esta situación puede ser aún más crítica dado que el consumo de agua de los animales enfermos, sobre todo de neumonía, causa que se reduzca drásticamente.

Así, se postula que además de la reducción de la ingesta de agua y de alimento por la neumonía, esto se agudiza por el mal sabor del antibacteriano en el agua de bebida. En preparaciones farmacéuticas mezcladas en el alimento, la situación no es diferente, por cuestiones de costo beneficio (el florfenicol es caro como principio activo: aproximadamente 230 USD/kg), no se aumenta la dosis en la comida, debido a que el cerdo tiene una notable capacidad para detectar sabores y el florfenicol tiene un sabor muy desagradable (5).

II. JUSTIFICACIÓN

En cerdos el florfenicol se ha utilizado con o sin fundamento en la prevención y tratamiento de enfermedades asociadas con el complejo de enfermedades respiratorias porcinas (PRDC) y la neumonía enzoótica cuando se le acompaña con tilosina y en las infecciones tempranas de lechones diagnosticados como complejo poliserositis, estreptococosis y micoplasmosis. Hay datos de uso en el tratamiento de disentería porcina. Tratamiento de enteropatía proliferativa o ileitis y como apoyo en infecciones bacterianas secundarias asociadas con enfermedades virales o inmunosupresoras (6).

En lo que respecta al florfenicol administrado como premezcla, se puede percibir que no existe un sustento real, fundamentado en variables farmacocinéticas / farmacodinámicas (PK/PD), para justificar su uso. De manera contrastante, el fabricante y vendedor de florfenicol (Nuflor Premix ®; MSD Salud Animal) presenta en su hoja técnica que después de la administración a los cerdos por alimentación

forzada a dosis de 10 mg/kg en condiciones experimentales, la concentración sérica máxima (C_{MAX}) llega a aproximadamente 5 $\mu\text{g/mL}$ mismos que se alcanzaron aproximadamente 3 h después de la dosificación T_{MAX} (Figura 1), mencionan que sus concentraciones están por encima de 1 $\mu\text{g/mL}$ durante 12 a 18 h.

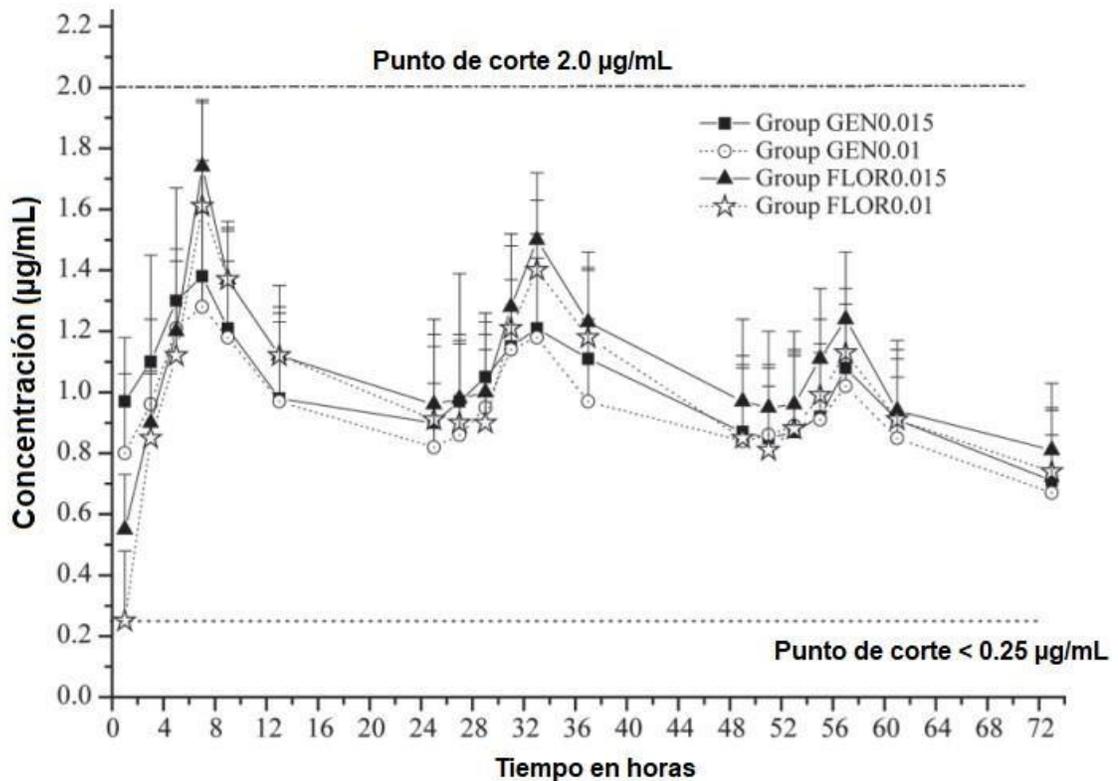


Figura 1. Concentraciones medias \pm 1 DE de florfenicol posterior a la administración de dos preparados de florfenicol en el agua de bebida a cerdos sanos a dosis inicial de 12.5 mg/kg. Adaptado de Gutiérrez *et al* (3). En este estudio se presentan las concentraciones séricas de florfenicol derivados de dos grupos de cerdos medicados con una concentración de florfenicol en el agua de 0.01 o 0.015 mg/mL mostraron una disminución diaria de las concentraciones plasmáticas del fármaco ($P < 0,05$). Dos puntos de quiebre o corte fueron considerados: uno que representa bacterias sensibles, como *Actinobacillus pleuropneumoniae* (0.25 $\mu\text{g/mL}$) y otro que representa patógenos más resistentes como *Escherichia coli* (2.0 $\mu\text{g/mL}$).

Evidentemente estos valores no reflejan de manera clara lo que sucede en campo, pues en sus recomendaciones de dosificación presentan una dosis de 20 a 40 ppm y como se ha comentado esto equivale a 1-2 mg/kg en un cerdo de 10 kg, considerando un consumo de alimento del 5% de su peso como es común (7) y administrado en dos tomas (8), esta propuesta de administración está por debajo de lo que se requiere, está subdosificado.

Es importante destacar que, en muchos casos en la clínica, la presencia de un brote de alguna enfermedad respiratoria obliga al clínico a utilizar un enfoque metafiláctico, por ello, debe entonces tratar a los cerdos vía el agua de bebida o el alimento, antes de que el brote se extienda y los cerdos rechacen por su condición de salud casi el 100% del alimento, así como al menos un 50% del agua (9). De tal suerte que resultaría de utilidad pragmática y más congruente desde una perspectiva PK/PD, contar con una premezcla de florfenicol con diseño farmacéutico de liberación modificada para larga acción, que mejorara la biodisponibilidad del florfenicol, al tiempo en el que se logre enmascarar su sabor desagradable.

En el laboratorio de Fisiología y Farmacología de la FMVZ, UNAM se ha desarrollado un método para evitar el mal sabor de la enrofloxacin, doxiciclina y otros principios activos, en los cuales, se ha probado ya su utilidad en perros (10), gatos (11), aves (12), conejos (13). Con una metodología similar se ha logrado enmascarar el sabor del florfenicol con éxito en las especies antes mencionadas (14) en los que la farmacocinética fue favorecida en términos de biodisponibilidad, así como el tiempo de residencia en el organismo (15).

Considerando la gran capacidad de detección de sabores de los cerdos (5) y de la necesidad de lograr puntos de corte (*breakpoints*) de mayor concentración en el plasma y por ende en los tejidos diana (principalmente vía respiratoria), se postula como objetivo de este trabajo realizar un ensayo para determinar la farmacocinética del florfenicol vía oral en esta especie, habiendo preparado la dosis de florfenicol con recubrimiento de alginato e incluyéndolo en pellets tipo FOLA (F= biodisponibilidad; O=óptima; LA= larga acción (16), este preparado forma parte de la Patente UNAM ante INPI/México, registrado con No.MX/a/2012/013222 y PCT/MX2013/000137).

III. FLORFENICOL

El florfenicol se desarrolló a partir del tianfenicol, un antibiótico de amplio espectro creado como alternativa para proteger al ser humano puesto que su espectro contra bacterias es 100 veces más potente en comparación con el cloranfenicol, por ello es considerado como una alternativa para disminuir la resistencia bacteriana (14). Sustituye un radical hidroxilo de la cadena alifática, por uno de flúor (Figura 2). A continuación, se resumen sus características principales (Cuadro 1).

Cuadro 1.

Características generales florfenicol. Tomado de Sumano *et al.* (14)

Nombre químico	(d-tre-2,2-dicloro-N-c-a(fluormetilo)-B-hidroxi-p-fenetilo) acetamida.
Fórmula condensada	CH, CL, FNOS
Peso molecular	358.2 Daltones
Solubilidad	Liposoluble
Biotransformación	Hepática vía conjugación glucurónica.
Excreción	Renal vía filtración glomerular.
Características físicas	El cambio en su coloración no afecta su potencia.
Uso aprobado	Bovinos, cerdos, aves
Microrganismos	Gram+ y Gram-
Eficacia	100 veces más potente que Cloranfenicol, actúa principalmente contra: <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus indol</i> , <i>Shigella sp.</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>Staphylococcus sp.</i> <i>Citrobacter sp.</i> <i>Bacteroides sp.</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , <i>Actinobacter sp.</i> <i>Haemophilus sp.</i> y <i>enterococos</i> .
Efectos adversos	Produce irritación moderada en el sitio de inyección.
Tiempo de retiro	30 días como mínimo (FDA).

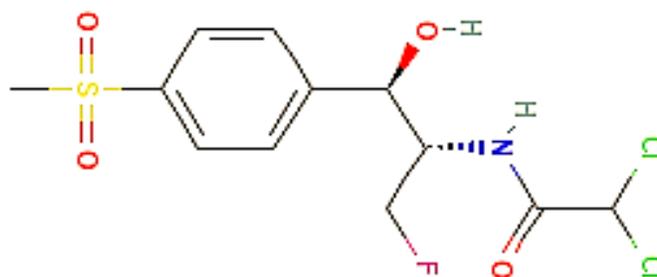


Figura 2. Modelo químico-estructural y molecular del florfenicol (17)

a. Terapéutica

El florfenicol está aprobado para animales de abasto, tiene un comportamiento de amplio espectro, bacteriostático, es usado principalmente para infecciones respiratorias de cerdos, causadas por *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, *Glaesserella (Haemophilus) parasuis*.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) de florfenicol se determinó para aislamientos obtenidos de infecciones respiratorias naturales de cerdos entre 1990 y 2001 (Cuadro 2). Las pruebas de susceptibilidad siguieron los métodos del Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico. Las cepas de referencia incluyeron *Escherichia coli* ATCC y *Actinobacillus pleuropneumoniae* ATCC 27090.

Cuadro 2.

Concentraciones mínimas inhibitorias del Florfenicol obtenidos del aislamiento de infecciones respiratorias naturales de cerdos (Adaptado de *Merck Animal Health*) (18)

Organismo	Número de aislamientos	MIC₉₀** (µg/mL)	Rango CMI (µg/mL)
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	360	0.50	≤0.125-2.0
<i>Pasteurella multocida</i>	335	0.50	≤0.125-2.0
<i>Salmonella choleraesuis</i>	46	4.0	2.0-4.0
<i>Streptococcus suis</i>	203	2.0	0.5-2.0

*Concentración mínima inhibitoria para el 90% de los aislamientos.

b. Farmacocinética

En la mayoría de las especies, se distribuye ampliamente en los tejidos y órganos, como pulmón, corazón, páncreas, músculo esquelético, bazo y líquido sinovial. Las concentraciones son relativamente más altas en bilis, riñón, intestino delgado y orina. Se le puede considerar un fármaco con cinética de orden cero, pero de acumulación moderada. Los metabolitos con una vida media más prolongada son las aminas y por eso sus valores se usan como marcador para calcular así el tiempo de retiro (14).

Se realizó una investigación que comparó las vías de administración con base en resultados cinéticos del florfenicol en cerdos, (19) los resultados de la vía intravenosa (IV), intramuscular (IM) y oral (PO) a una dosis única de 20 mg/kg, lo acompañaron de un modelo de enfermedad confirmado por signos clínicos, rayos X, estudio histopatológico y aislamiento de organismos (19).

Las concentraciones de florfenicol en plasma se determinaron mediante un método de cromatografía líquida de alta resolución con detección UV a una longitud de onda de 223 nm. Los parámetros se calcularon utilizando el software MCPKP, la disposición de florfenicol después de una sola inyección IV bolo se describió por un modelo de dos compartimentos con valores para la vida media en la fase ($t_{1/2}$), la vida media en la fase ($t_{1/2}$), el área bajo la curva concentración-tiempo (AUC_0), y el volumen de distribución en estado estacionario (V_{ss}) de 0.37 h, 2.91 h, 64.86 g h/mL y 1,2 L/kg, respectivamente (19).

Los datos de concentración-tiempo se ajustaron al modelo mono-compartimental (después de IM) y modelos de dos compartimentos (después de VO) con absorción de primer orden. Los valores para el máximo concentración de fármaco en suero (C_{MAX}), $t_{1/2}$, $t_{1/2}$ y biodisponibilidad después de la inyección IM y PO dosificación fueron 4.00 y 8,11 g/mL, 0,12 y 3,91 h, 13,88 y 16,53 h, y 122,7 y 112,9%, respectivamente, para los dos modelos. El estudio demostró que el florfenicol se absorbe rápidamente, amplia distribución y lenta eliminación en los cerdos infectados, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los perfiles farmacocinéticos para el cerdo infectados y sanos (19).

La importancia de la medicación racional se magnifica en el ámbito veterinario, en donde la eficacia de un tratamiento clínico no sólo radica en la elección de una presentación farmacéutica, sino también en los sistemas de liberación modificada que mejoran la palatabilidad, liberan lentamente el fármaco a la sangre y mantienen su concentración por arriba del crecimiento mínimo inhibitorio para las bacterias, otro de los beneficios de esto radica en que, manteniendo una concentración por arriba de las CMI a lo largo de 24 h, se facilitarían su administración en granja y así, se aportaría a reducir los días de tratamiento médico, el estrés animal por manejo, número de administraciones, mano de obra y dinero invertido (35).

México y algunos países latinoamericanos han utilizado el florfenicol usado como premezcla en el alimento para aves y cerdos, la dosis recomendada comercialmente para la presentación Nuflor Premix® es muy baja (20-40) ppm por tonelada (1,8). Para obtener concentraciones terapéuticas confiables, se recomendaría dosis útiles al menos de 80 ppm o más (23).

En la Cuadro 3, se presentan los valores farmacocinéticos del florfenicol en cerdos, los cuales demuestran que el florfenicol se absorbe mejor en presencia de alimento; concentración máxima vía oral 14.5 ± 3 vs 7.3 ± 2 $\mu\text{g/mL}$, por lo que la administración en el alimento representa una ventaja terapéutica importante en el cerdo (14, 36). Por ello, el presente proyecto propone un preparado farmacéutico vía oral.

Cuadro 3.

Valores cinéticos del florfenicol en cerdos a dosis de 15 mg/kg por vía IM y VO Obtenido de Sumano *et al.* (14)

Variable	Vía intramuscular	Vía oral
AUC ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$)	74.8 ± 34	100 ± 16
AUMC ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}^2$)	110 ± 31	103 ± 18
T _{MAX} (hr)	14 ± 4	5.5 ± 4.2
C _{MAX} ($\mu\text{g/mL}$)	7.3 ± 2	14.5 ± 3
T _{1/2β} (hr)	2.3 ± 0.8	3.0 ± 0.8

En la Figura 3 se presentan los perfiles séricos del florfenicol administrado vía oral en comparación a lo que se logra vía intramuscular, la concentración sérica máxima demuestra una superioridad por el doble siendo superior la administración oral pero a dosis adecuadas de 15 mg/kg/día (14). Retomando el punto anterior, donde en México y Latinoamérica se utiliza en premezcla del alimento a una dosificación 10 veces menor a la requerida para los principales patógenos respiratorios que afectan al cerdo, por ejemplo; *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica* y algunas cepas de *Pasteurella multocida*, lo anterior representa una pérdida económica importante para los productores.

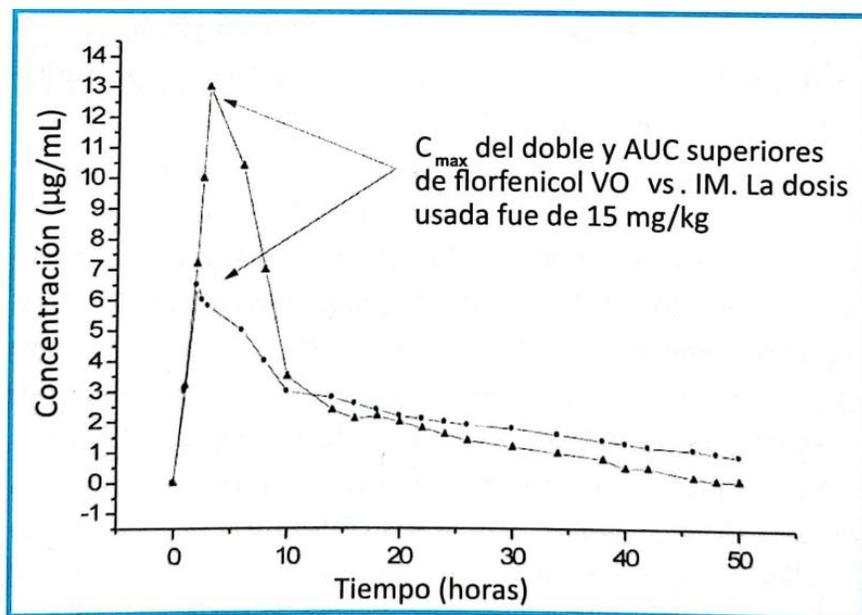


Figura 3. Perfiles de las concentraciones plasmáticas de florfenicol en cerdos por vía IM y VO dosis de 15 mg/kg. Obtenido de Sumano *et al.* (14)

c. Farmacodinamia

El florfenicol es un antibiótico que inhibe la síntesis proteica al unirse a la subunidad ribosomal 50s de las bacterias susceptibles, perjudica a la enzima peptidil transferasa, por lo que evita la transferencia de aminoácidos en la formación de cadenas peptídicas y la subsecuente formación de proteínas. La inhibición de este proceso lleva a la bacteria a un paro metabólico y por ello se describe su efecto como bacteriostático.

Los receptores bacterianos son los mismos que para el cloranfenicol y a diferencia de éste, el florfenicol llega a ser bactericida contra *Haemophilus somnus*, *Manhemia haemolytica* y *Pasteurella multocida* (20). Su actividad antibacteriana contra microorganismos resistentes se debe a que aparentemente no es afectado por la mayoría de las enzimas producidas por las bacterias que modifican el radical OH, sustituido en el florfenicol por el flúor (14).

El género *Enterobacteriae* puede inactivar al cloranfenicol y al tianfenicol por acetilación del grupo OH en los átomos de carbono 1 y 3 de la cadena del propanediol (alifática), lo cual no ocurre en el caso del florfenicol, ya que posee una

unión flúor, que le permite ser más potente contra microorganismos patógenos, en comparación con sus otros dos análogos.

d) Uso clínico en cerdos

Es importante mencionar que la carne de cerdo para consumo humano al utilizar este antibiótico es segura. La cadena central de aminopropanediol de los fenicoles está asociada a la actividad antibacteriana de la molécula. En el cloranfenicol el núcleo aromático puede reemplazarse sin que la actividad quede suprimida, aunque esta estructura confiere una elevada liposolubilidad a estas moléculas. La sustitución del grupo nitro por un grupo metilsulfonilo ($\text{CH}_3\text{-SO}_2$) en la posición del nitrobenzeno corresponde al tianfenicol y precisamente en la cadena de aminopropanediol del tianfenicol se sustituye un hidroxilo por el flúor para abatir la tasa de resistencias bacterianas que se generan por acción de hidroxilasas bacterianas a este nivel. De esta manera, se logra un derivado fenicol en el que se elimina el riesgo de supresión de la médula ósea en humanos (reactiva o dependiente de la dosis) y se tiene un antibacteriano con baja tasa de resistencias bacterianas (21).

Para la enfermedad respiratoria porcina se utiliza en el agua de bebida, a una concentración de 400 mg/3,8 L (100 ppm), se opta como única fuente de agua de bebida durante 5 días, por ejemplo, para hacerlo en un tanque cisterna, se recomienda agregar 3,8 L de producto en 486,5 L de agua (proporción 0,8%) (Información en el prospecto del producto; Nuflor Concentrate Solution® - Schering Plough) (20), en el Cuadro 4 se mencionan las principales formulaciones a nivel internacional. La alimentación con robenidina resulta en una disminución evidente de los niveles plasmáticos de florfenicol en comparación con la alimentación sin anticoccidiales (22). Las dosis tóxicas vía oral en cerdos 3X, 5X y 10X provocan hinchazón anal, estreñimiento, disminución del consumo de alimento, disminución del aumento de peso y disminución del consumo de agua (18), el manejo de una sobredosis VO debe manejarse con descontaminación gastrointestinal y cuidado signológico.

Cuadro 4.

Formulaciones farmacéuticas de florfenicol a nivel internacional Adaptado de: *Veterinary Information Network* (23)

PRESENTACIÓN FLOREFENICOL	DOSIS	NOMBRE
23 mg/mL	Solución agua de bebida	<i>AbbeyFlor: Abbey; Florcon: Med-Pharmex; Flovio: Elanco US; Nuflor: Intervet; Selectan Oral: Hipra</i>
40 mg/g	Premezcla farmacológica: carbonato de calcio y polypropylene glycol	<i>AbbeyFLor: Abbey; Nuflor: Schering-Plough; Floron: Krka dd; Florvetol: Intervet Australia.</i>
100 mg/mL - 200 mg/mL	Solución en agua de bebida	<i>Florolab: Vetpharma Animal Health; K-Flor: Laboratorios Karizoo; Mycoflor: SP Veterinaria; Nifencol: Vetpharma Animal Health</i>
200 mg/g florfenicol	Gránulos para agua de bebida	<i>Amphen: Huvepharma.</i>
300 mg/mL	Solución inyectable, contiene 2-pyrrolidone y triacetin	<i>AbbeyFlor: Abbey; Cadorex: Livisto; Fenflor: Krka dd, Novo Mesto; Fenflor: Krka dd, Novo Mesto; Flordofen: Dopharma; Florfenikel: Kela; Florgane: Emdoka; Florinject: Laboratorios Calier; Florkem: Ceva; Flovuxin, Novo Mestro, Kefloril: Vetoquinol;; Mycoflor: SP Veterinaria; Nifencol: Vetpharma Animal Health; Norfenicol: Norbrook; Nuflor, NuflorGOLD: Intervet, Intervet UK; Selectan: Hipra; Shotaflo: Virbac)</i>
300 mg/mL, 16.5 mg/mL de flunixin meglumine	Solución inyectable	<i>Resflor Gold: Intervet Canada, Intervet UK.</i>
400 mg/mL, 5 mg/mL meloxicam	Solución inyectable	<i>Zeleris: Ceva Sante Animale</i>
450 mg/mL	Solución inyectable	<i>Nuflor Minidose: MSD Animal Health</i>
500 mg/g	Premezcla farmacológica: base de lactosa y povidone	<i>Aquaflor: Schering-Plough, Intervet Canada; Florocol: Intervet UK</i>
1000 mg/g	Premezcla concentrada en el alimento	<i>AbbeyFlor: Abbey</i>
20mg/g**	Premezcla concentrada en el alimento	<i>Nuflor MSD Salud Animal</i>

IV. FLORFENICOL CON RECUBRIMIENTO DE ALGINATO EN PELLETS

TIPO FOLA

Se trabajó con la Patente UNAM ante INPI/México: No.MX/a/2012/013222 y PCT/MX2013/000137, titulada “*Composición de vehículos y formas farmacéuticas de liberación sostenida y aumento de biodisponibilidad de antibacterianos, anticoccidianos y otros fármacos en aves comerciales y cerdos*” (16).

La composición de vehículos y formas farmacéuticas contiene entre sus principales objetivos¹:

- ⇒ Proveer una composición física-química que incremente la biodisponibilidad (F) de los antibacterianos, analgésicos, mucolíticos, anticoccidianos, vitaminas y minerales.
- ⇒ Lograr la máxima respuesta de los fármacos o principios activos incorporados, debido a su disponibilidad en el tubo gastrointestinal (GI).
- ⇒ Forma farmacéutica administrable a pollo de engorda, aves productoras de huevo, pollo parrillero, patos, pavos, gansos, codornices, avestruces, así como en cerdos en todas sus etapas productivas, lechones, pie de cría, engorda.
- ⇒ Optimizar la dosificación, reduciendo el desperdicio de fármacos.
- ⇒ Minimizar la generación de cepas resistentes de bacterias debido a la relación farmacocinética/farmacodinamia (PK/PD) de antibacterianos, AINE, mucolíticos, anticoccidianos, entre otros.
- ⇒ Proveer una composición de vehículos y formas farmacéuticas que enmascara el sabor y el olor.

¹ Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI). *Composition of excipients and pharmaceutical forms with sustained release and increased bioavailability of antibacterial drugs, anticoccidial drugs and other drugs for commercial poultry and pigs.*

V. HIPÓTESIS

Por comparación con una premezcla comercial sin diseño farmacéutico especial (florfenicol referente; FI-r), los cerdos alimentados con florfenicol incluido en alginato y posteriormente integrado en pellets tipo FOLA (FI-a-FOLA) evitarán que el cerdo distinga su inclusión en el alimento y permitirán una absorción más eficiente (mayor biodisponibilidad) generando un perfil plasmático de larga acción (por liberación modificada). Lo anterior causará relaciones PK/PD más favorables que podrán optimizar el uso de este antibiótico en la clínica.

VI. OBJETIVO

General

Realizar un ensayo para determinar la farmacocinética del florfenicol vía oral en cerdos, habiendo preparado la dosis de florfenicol con recubrimiento de alginato e incluyéndolo en pellets tipo FOLA.

Particular

- Elaborar el preparado de florfenicol recubierto de alginato e incorporado en pellets tipo FOLAs (prototipo F-a/FOLA).
- Calcular la incorporación del florfenicol en el preparado prototipo (F-a/FOLA) y determinar la relación de número de pellets en el alimento comercial de cerdos, no medicado, para lograr una medicación a razón de 100 ppm.
- Realizar un estudio farmacocinético comparativo de la premezcla de referencia (Nuflor Premix ®, MSD; F-r) y del prototipo F-a/FOLA con dosis bolo (10 mg/kg).

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar

El trabajo se realizó en las Instalaciones del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión de Producción Porcina (CEIEPP), ubicado en el kilómetro 2 de la Carretera Jilotepec-Corrales en Jilotepec, Estado de México.

En la Figura 4 se muestra a la granja de ciclo completo con una extensión de 16 hectáreas, la cual pertenece a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UNAM, tiene las áreas de: cuarentena, servicios, gestación, maternidad, destete y engorda, taller de cárnicos, nave de detección de estros, planta de alimentos, terreno para producción agrícola y área de necropsias (24).

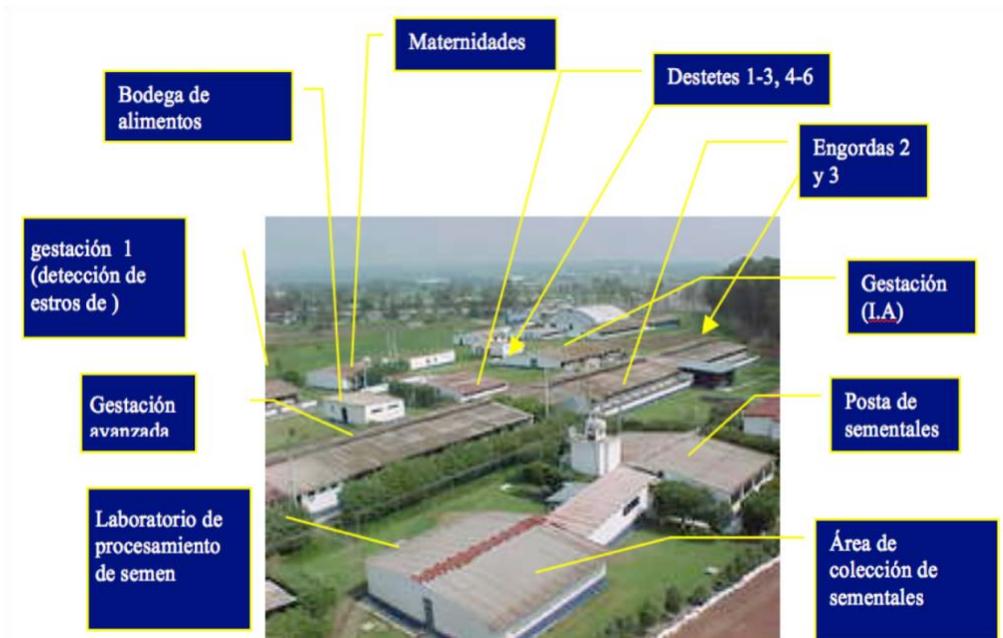


Figura 4. Instalaciones del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión de Producción Porcina (CEIEPP-FMVZ/UNAM). Fotografía: obtenida Secretaría de Medicina, Zootecnia y Extensionismo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. CEIEPP (24).

Animales

Se utilizaron cerdos domésticos (*Sus scrofa domesticus*) se eligieron 8 de 35 días de edad clínicamente sanos, sin medicación previa al momento del estudio con un peso promedio de 10 kg \pm 1.6 kg provenientes del área de destete dos y tres del C.E.I.E.P.P.

Distribución

Se separaron los animales de forma aleatoria en 2 grupos de 4 cerdos cada uno y en cada corrida, se pesó cada cerdo para lograr una dosificación acorde con su peso. Se asignó un corral para cada grupo en esta área los cerdos se encuentran en corraletas elevadas para lechones, agrupados de tal forma que se respeta su espacio vital, número de bebederos y comederos.

Identificación

- ✓ Los cerdos se encontraban ya agrupados como estaban en el corral de lactancia C.E.I.E.E.P., con la finalidad de disminuir peleas por establecimiento de jerarquías y por ende disminuir al máximo el estrés por manejo al reagrupar éstos.
- ✓ Se identificó numéricamente en el dorso a cada cerdo con marcador para ganado, asignando un color diferente a cada grupo.
- ✓ Se aseguró mantener visible el número de la marca durante toda la prueba con el fin de identificar cada cerdo de manera individual y mantener un control para la aplicación del fármaco y toma de muestras.
- ✓ Las corridas se realizaron con 1 semana de diferencia para lograr 2 corridas por grupo como se muestra en el Cuadro 5.

Cuadro 5.

Relación de número de cerdos/ número de tomas de muestra de sangre por tiempo para conformar tres corridas de farmacocinética de florfenicol en un modelo tipo *naive pooled sampling* (25).

Grupo ↓	Corrida farmacocinética	Tiempo de toma de muestra sanguínea							
		Cero h	45 min	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h
Florfenicol referente	1	4	3	4	4	4	3	4	3
	2	3	3	4	4	3	3	3	4
	3	4	3	3	3	4	3	4	3
Prototipo florfenicol-alginato FOLA	1	4	4	4	3	4	4	3	3
	2	4	4	3	3	3	3	4	3
	3	3	3	4	3	3	3	4	3

Alimentación y agua de bebida

Una vez iniciado el protocolo, el alimento y agua se administró *ad libitum* conforme a los manejos de la granja.

Producto

Las perlas de florfenicol recubierto de alginato se elaboraron en el Laboratorio de Farmacología de la FMVZ UNAM, (26,27). A continuación, se describe brevemente la preparación y conformación de la FOLA.

Se diseñó una solución de alginato de sodio (2,5 % p/v) que contenía florfenicol (5 y 7 % p/v), esta solución se dispersó mediante agitación constante y se dejó caer a través de una aguja de jeringa en una solución de CaCl₂ al 2,5 % (p/v), se requirió

realizar una agitación de tipo magnético y constante para producir las perlas de alginato.

Las perlas completamente formadas se recogieron por filtración y se secan al aire a temperatura ambiente durante 48 h, se demostró en el estudio (13,27) que con este sistema se incluye el florfenicol en las perlas a razón de 74% del peso. De tal manera que 1g de florfenicol se encuentra incluido en 1.35 g de perlas de alginato.

Los pellets se prepararon agregando 135 g de florfenicol-alginato a 265 g de elementos de la formulación tipo FOLA²; esto es 400 g de FI-a-FOLA contienen 100 g de florfenicol. Así, se requieren 50 g de la formulación comercial de Nuflor-Premix® al 20% para lograr 10 kg de alimento medicado con 100 ppm de florfenicol y 1.35 g de FI-a-FOLA para lograr la misma concentración.

Administración de los preparados de Florfenicol

Al grupo F-a/FOLA y al grupo F-r se les administró el florfenicol a razón de 10 mg/kg. Para ello, se incluyó la dosis en grenetina sin sabor (0.1%) y se mezcló con agitación vigorosa. Posteriormente se les dosificó de manera forzada utilizando una jeringa de 50 mL recortada en su punta y administrando un volumen aproximadamente 15 mL.

Material

Para el proyecto se utilizaron; torundas de algodón, alcohol 96° para limpieza del área yugular, jeringas nuevas estériles, catéter mariposa 23G, tubos vacutainer sin anticoagulante color rojo, bolsa de plástico para recoger basura del corral, 4 botellas plástico PET medianas y un costal de azúcar para enriquecimiento ambiental, marcador para ganado, báscula digital para peso kg, cepillo y jabón para botas limpias.

² (INPI/México: No.MX/a/2012/013222 y PCT/MX2013/000137)

Toma de muestras

Posterior a la dosis bolo-forzada, se tomaron muestras de sangre de acuerdo con el protocolo de “Sangrado y técnicas intravenosas en cerdos”, publicado por el *National Centre for the Replacement Refinement and Reduction of Animals in Research* (28), la cual ilustra los pasos para la colocación de catéter en investigaciones científicas que requieren múltiples sangrados en cerdos:

- I. En silencio y sin movimientos bruscos que asusten a los cerdos, se sostendrá al cerdo sobre su regazo y al mismo tiempo levantará la oreja.
- II. Se limpiará la oreja, se frotará el pabellón auricular con alcohol, se palmeará tres o cuatro veces el pabellón auricular, a fin de visibilizar las venas que cruzan la cara externa y borde del pabellón.
- III. Se comprime la base del pabellón auricular, rodeándolo con los dedos de la mano con guante estéril a fin de evitar un retorno venoso y facilitar el ingurgitado de las venas del pabellón auricular, con una aguja de mariposa calibre 23G.
- IV. Se introduce lentamente y desliza al mismo tiempo en dirección a la base de la oreja hasta que aparezca la sangre (Figura 5).
- V. Se retira lentamente el estilete y se inserta el catéter completo en la vena de la oreja y se procederá a fijar el catéter con cinta especial para piel indolora al retiro.
- VI. Se resguarda a los cerdos individualmente para evitar que se arranquen el catéter entre ellos mismos.
- VII. Se observa el comportamiento del cerdo durante todo el manejo y se soltará de inmediato en caso de hiperemia o cianosis de extremidades, lengua o cara.

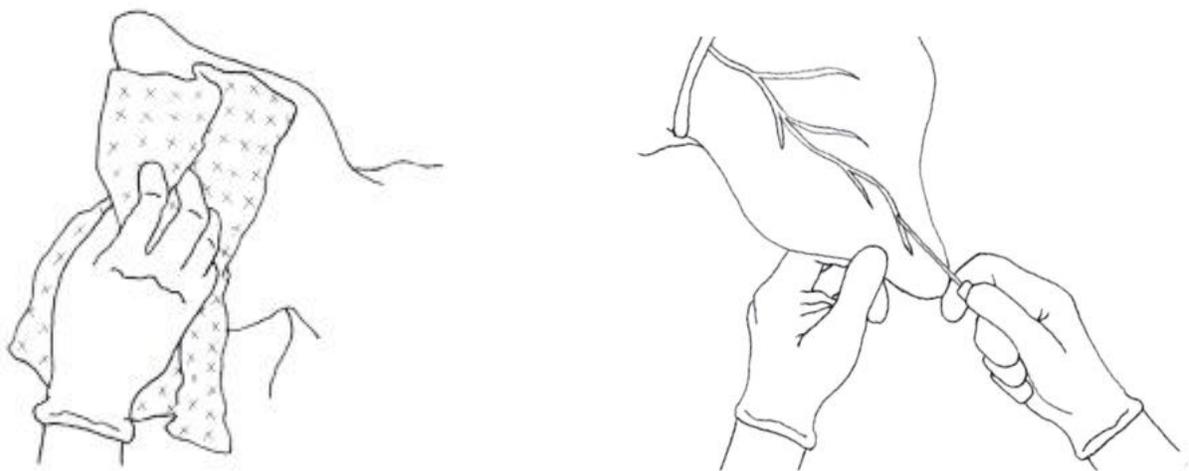


Figura 5. Pasos para la correcta toma de muestra sanguínea en cerdos - *Swine Medicine Education Center y Iowa State University. (28).*

Cada muestra se identificó con el grupo, número de cerdo y tiempo de muestreo y cada cerdo sólo se muestreó 3 o 4 veces para lograr 3 corridas tipo *naive-pooled sampling* (25).

En ambos grupos se realizó el muestreo a los 45min, 1h, 2h, 4h, 6h, 8h y 12 h después de administrado el fármaco. Cada muestra se identificó con el grupo, número de cerdo y tiempo de muestreo.

La sangre fue inmediatamente centrifugada a 3500 rpm durante 10 min con la finalidad de obtener el suero sanguíneo, el cual se recolectó con pipetas Pasteur y depositó en tubos de criopreservación, los cuales se identificaron con la misma leyenda, y fueron congelados hasta su análisis.

Procesamiento de muestras

Las concentraciones de florfenicol en el suero se evaluaron por el método de actividad/concentración de florfenicol y su metabolito correspondiente (florfenicol amina), de acuerdo con lo descrito por Bennet (29).

El estudio cuantitativo de florfenicol se desarrolló usando el método microbiológico de difusión en agar, se utilizó el microorganismo *Bacillus subtilis* 6633 ATCC, ya que ha demostrado alta sensibilidad al florfenicol (30). La solución estándar se preparó utilizando una serie de diluciones del fármaco control y suero de los cerdos, las concentraciones de florfenicol se calcularon por interpolación, comparando el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento de la bacteria con una curva realizada con el estándar (31).

Análisis para la evaluación microbiológica de Florfenicol

Método de Bennet (29)

A continuación, se describe brevemente la técnica de análisis.

- ✓ Agar utilizado: Müeller Hinton (Bixon) preparado siguiendo las indicaciones que marca el producto.
- ✓ Cepa bacteriana: ATCC (*American Type Culture Collection*) *Bacillus Subtilis* 6633.

Estándar bacteriano (obtención de spora *Bacillus Subtilis* 6633)

Se resiembró en una caja de Petri (24 h antes a temperatura 32°- 37° C), se utilizan 5 mL de caldo de cultivo a temperatura ambiente, se lava el crecimiento de la caja y se recoge con una espátula. Posteriormente se centrifuga (20 minutos a 3500 rpm) y se decanta el sobrenadante obtenido. Finalmente, se suspende de nuevo el sedimento con 50-70 mL de caldo de cultivo estéril y se calienta la suspensión por 30 min a temperatura de 70°C, pasado este tiempo se refrigera por 2 h, sale del refrigerador y se impregna a la placa de agar (31,32)

Preparación de las placas

En un refractario tipo *Pirex*® de 21 X 20 cm, estéril, se colocan 300 mL de agar, se enfría durante 10 minutos. Sobre el agar ya frío se colocan 400 µl de la suspensión de la spora bacteriana y por medio de un hisopo estéril se distribuye homogéneamente sobre todo el agar, se reposa la placa de agar a temperatura ambiente por 2 h (31,32)

Preparación de las diluciones

Se requirió pesar 20 g de estándar de florfenicol (98% de pureza), se colocaron en un matraz y se aforaron a 100 mL con agua desionizada. Se marcaron 10 tubos de 5 mL del 1 al 10 y uno de 15 mL con el número 0, en el matraz numerado con el 0 se coloca 9 mL de agua desionizada y en los demás tubos se colocó 1 mL en cada uno de ellos. Del matraz se tomaron 1 mL y se agregó en el tubo 0 se homogeniza y de este se tomó 1 mL y se agregó al tubo 1, se homogenizó y posteriormente se volvió a tomar 1 mL, agregar al tubo 2 y así se continúa hasta completar los 10 tubos (31,32).

Lectura de las placas

Una vez preparada la placa y con ayuda de un sacabocados se realizaron a lo largo del refractario dos hileras de 10 pozos cada una. Se colocaron en cada pozo 100 μ l de cada una de las diluciones, realizándose por duplicado. Se realizaron 5 placas en el mismo día con la misma metodología, con la finalidad de tener un total de 10 lecturas, se incuban durante 24 h a 37°C. Transcurridas las 24 h se realizaron las lecturas de mm de halo de inhibición por pozo y por placa (31,32).

Procesamiento de las lecturas de los halos de inhibición

Se obtuvo la media y las desviaciones estándar del diámetro de halo de inhibición de cada una de las diluciones. A partir de los cuales con ayuda de los programas *Microcal Origin1* y *Excel*, se obtuvieron las gráficas de milímetros de halo de inhibición vs concentración.

Procesamiento Farmacocinético

A continuación se presentan en el Cuadro 6, las variables farmacocinéticas que describen la absorción, tiempo y concentración máxima del florfenicol de referencia y el preparado. La dosificación en bolo de florfenicol se ajustó en el programa *PKSimulation®*, utilizando un modelo de dos compartimentos con entrada de primer orden y salida de primer orden ($r \geq 0,99$), con la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración (Tiempo)} = \frac{\text{Dosis} \times K_{AB}}{\text{Volumen } K_{AB} - K_{elim}} e^{-K_{elim} \times \text{Tiempo}} - e^{-K_{AB} \times \text{Tiempo}}$$

Donde:

- K_{AB} : Constante de absorción
- K_{elim} : Constante de eliminación.

Cuadro 6.

Variables farmacocinéticas

T_{1/2ab}	Vida media de absorción.
T_{1/2β}	Vida media de eliminación (h)
C_{MAX}	Concentración plasmática máxima alcanzada.
AUC	Área bajo la curva de concentración plasmática de florfenicol y florfenicol amina a lo largo del tiempo $\mu\text{g/mL/h}$
AUMC	Área bajo la curva de concentración sérica de florfenicol y florfenicol amina tiempo/tiempo
MRT	Tiempo medio de residencia
AUCT	Área bajo la curva de concentración plasmática de florfenicol y florfenicol amina a lo largo del tiempo mediante el método trapezoidal.

La biodisponibilidad relativa (Fr) se calculó utilizando la fórmula

$$\text{FR} = \text{AUC}_{\text{F-r}} / \text{AUC}_{\text{F-a/FOLA}} \times 100.$$

Los datos se presentan como media \pm 1 DE de 3 observaciones para cada variable y las comparaciones estadísticas de C_{MAX} , T_{MAX} , AUC, MRT, $T_{1/2ab}$ y $T_{1/2\beta}$ entre grupos.

Análisis Estadístico

- Se realizó la prueba estadística de Dunn test y Kruskal walis test.

Los resultados de las concentraciones se compararon estadísticamente contrastando los grupos (referente y prototipo) mediante el programa JMP®.

De acuerdo con las leyes mexicanas, todas las muestras biológicas fueron eliminadas mediante incineración según la normativa mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005 (33).

VIII. RESULTADOS

Durante la realización del experimento no se presentaron efectos adversos en ningún animal.

En la Cuadro 7 se presentan las concentraciones logradas con el florfenicol de referencia en el primer grupo, la dosis fue calculada con base en peso corporal y luego dosificada en 0.1% de gretina sin sabor, las gráficas individuales de las curvas de concentraciones vs tiempo de cada cerdo con el preparado de referencia a dosis de 10 mg/kg de este grupo se encuentran en los anexos Figuras 12 - 15. En la Cuadro 8, se presentan los datos obtenidos del prototipo de florfenicol en alginato e incluido en pellets tipo FOLA, las variables farmacocinéticas obtenidas de ambas medicaciones se presentan en la Cuadro 12 las gráficas individuales de las curvas de concentraciones vs tiempo de cada cerdo con la FOLA a dosis de 10 mg/kg de este grupo se encuentran en los anexos Figuras 16 – 19.

Cuadro 7.

Concentraciones/actividades ($\mu\text{g/mL}$) individuales de florfenicol en suero de cerdos dosificados con el preparado de referencia en $\mu\text{g/mL}$

REFERENCIA $\mu\text{g/mL}$						
H	Cerdo 1	Cerdo 2	Cerdo 3	Cerdo 4	Promedio	DE
0.5	0.09	0.08	0.1	0.09	0.09	0.008
1	0.2	0.5	0.2	0.6	0.375	0.206
2	0.3	0.8	0.6	0.9	0.65	0.265
4	0.5	1	0.9	1.1*	0.875	0.263
6	0.3	0.7	0.5	0.6	0.525	0.171
8	0.5	0.6	0.3	0.4	0.45	0.129
10	0.3	0.5	0.3	0.3	0.35	0.100
12	0.2	0.4	0.1	0.1	0.2	0.141

DE: Desviación estándar.

A continuación, se presentan en la Figuras 6 y 7 las gráficas correspondientes a la actividad concentración en el eje y, así como el tiempo en h post - administración en el eje x, incluye la desviación estándar.

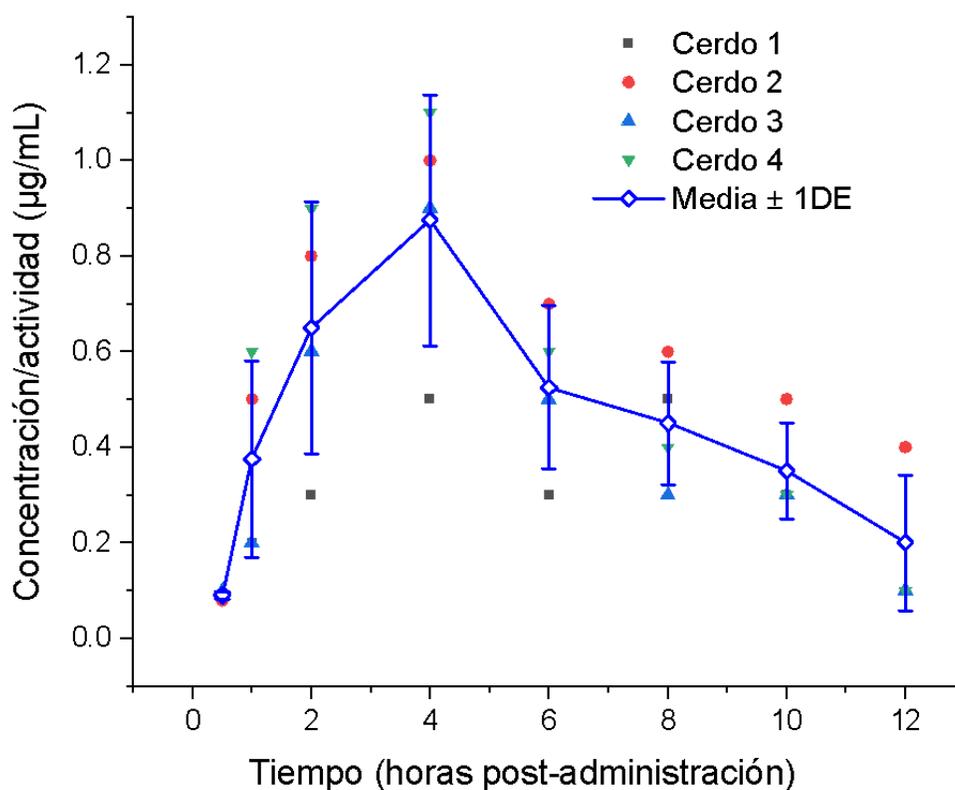


Figura 6. Media \pm 1 DE de las actividades/concentraciones $\mu\text{g/mL}$ de florfenicol referente en cerdos que recibieron una dosis en bolo de 10mg/kg

Cuadro 8.

Concentraciones/actividades ($\mu\text{g}/\text{mL}$) individuales de florfenicol en suero de cerdos dosificados con el preparado tipo FOLA.

FOLA $\mu\text{g}/\text{mL}$						
H	Cerdo 1	Cerdo 2	Cerdo 3	Cerdo 4	Promedio	DE
0.5	1	0.9	0.7	0.9	0.875	0.126
1	1.7	1.4	1.5	1.9	1.625	0.222
2	2.8	2.4	2.9	2.3	2.6	0.294
4	5.3	4.9	5.1	4.3	4.9	0.432
6	7.1*	6.3	7.2	6.8	6.85	0.404
8	6.4	6.2	6.5	5.7	6.2	0.356
10	5.8	5.6	5.2	5.4	5.5	0.258
12	4.2	4.1	4.9	5.9	4.775	0.830

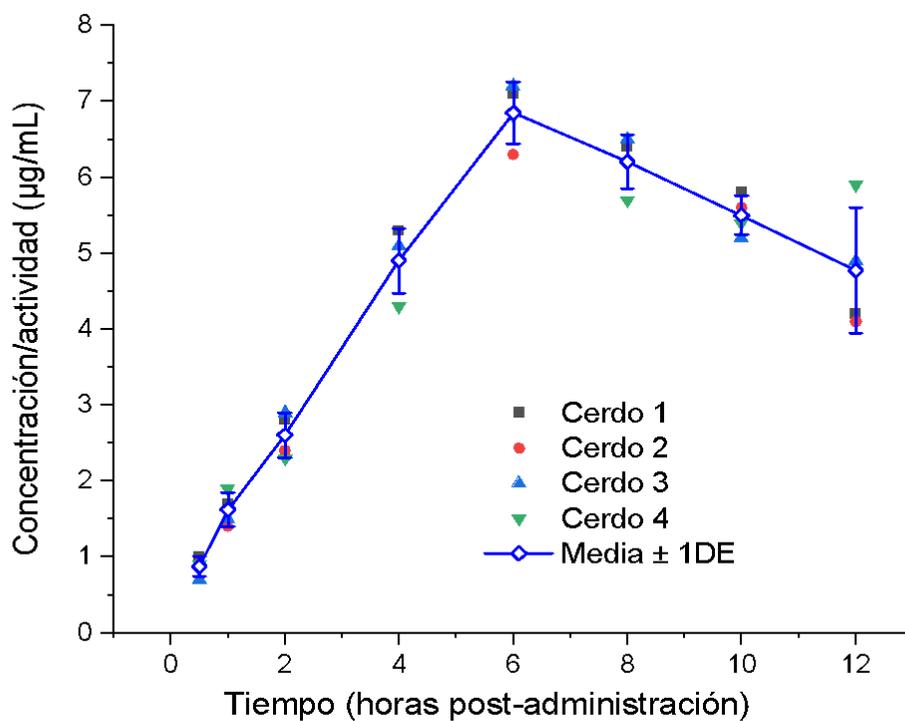


Figura 7. Media \pm 1 DE de las actividades/concentraciones ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de florfenicol en suero de cerdos medicados con florfenicol en FOLA a una dosis en bolo de 10mg/kg

En el Cuadro 9, se puede observar el promedio de las concentraciones encontradas en el suero de ambos grupos, en el grupo de referencia se obtuvo una concentración máxima de 0.85 µg/mL a las 4 h, mientras que en la FOLA se presentó hasta las 6 h con una concentración de 6.8 µg/mL. La Figura 8 y 9 ilustran la distribución en promedio de los grupos que recibieron el florfenicol de referencia y en FOLA.

Cuadro 9.

Promedio concentración en suero de Florfenicol referente vs. FOLA a lo largo del estudio (µg/mL).

H	Promedio FI-ref µg/mL	± DE	Promedio FI-a-FOLA µg/mL	± DE
0.5	0.105	0.0393	0.825	0.1581
1	0.3625	0.1506	1.6375	0.2264
2	0.6125	0.2031	2.5375	0.3583
4	0.85*	0.1927	4.8375	0.3739
6	0.5375	0.1598	6.8*	0.4243
8	0.4375	0.1188	6.0625	0.4565
10	0.35	0.0926	5.4	0.3464
12	0.225	0.1165	4.8125	0.5768

*C_{MAX} de cada preparación farmacéutica

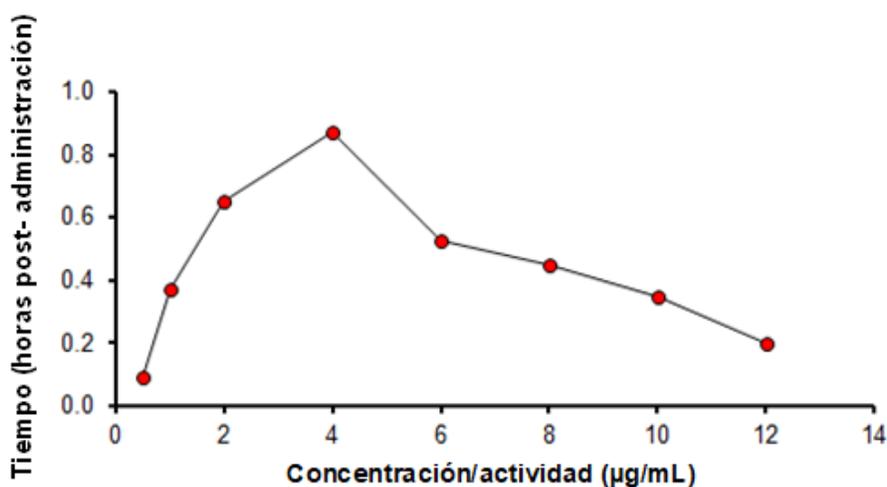


Figura 8. Concentración promedio de florfenicol en suero de cerdos durante las primeras 12 h post – administración, dosificados con el preparado de referencia a las dosis ya descritas de 10 mg/kg.

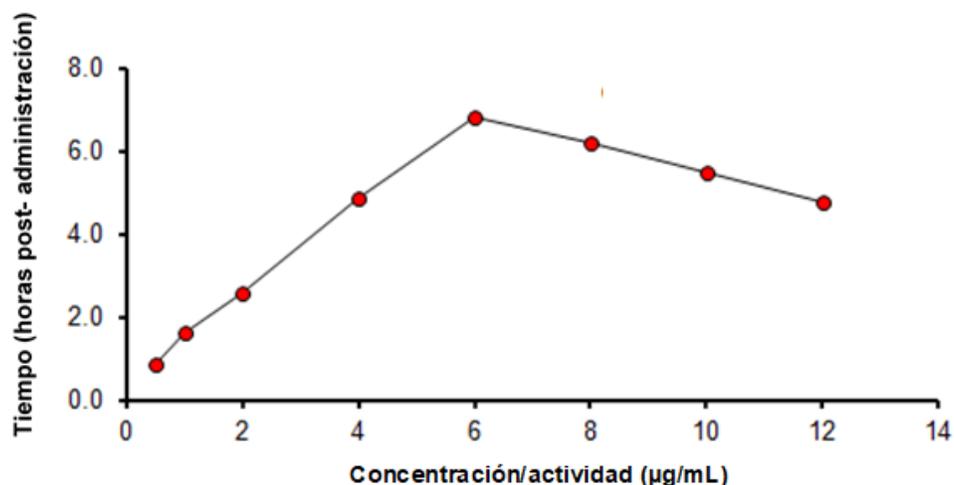


Figura 9. Concentración µg/mL promedio del suero de cerdos FOLA durante las primeras 12 h post – administración.

En los Cuadros 10 y 12 se presentan los parámetros farmacocinéticos individuales de los grupos que se administró el florfenicol de referencia y la FOLA. Así pues, los cuadros 11 y 13 muestran el promedio correspondiente a cada grupo.

Cuadro 10.

Parámetros farmacocinéticos individuales del suero Florfenicol - referente, obtenidos de *PKStimulation 2.0*.

FLORFENICOL REFERENTE INDIVIDUAL CERDO					
Valor	Unidad	Cerdo 1	Cerdo 2	Cerdo 3	Cerdo 4
Vida de absorción	hr	0.72	0.91	1.12	1.04
Vida media de eliminación	hr	3.42	6.21	1.26	1.26
C_{MAX}	µg/mL	0.5	1	0.9	1.1
T_{MAX}	hr	4	4	4	4
AUC (área)	µg/mL /mL	0.0725	0.145	0.075	0.1725
AUMC (área)	µg/mL /mL	0.1295	0.135	0.13	0.13
MRT	hr	8.3	10.6	5.5	5.1

C_{MAX}: Concentración máxima observada. **T_{MAX}**: Tiempo a la concentración máxima.
AUC (área): Área bajo la curva. **AUMC (área)**: Área bajo el primer momento de la curva **MRT**: Tiempo medio de residencia.

Cuadro 11.

Parámetros farmacocinéticos promedio del suero Florfenicol – referente, obtenidos en PKStimulation 2.0

Florfenicol referente			
Parámetros	Promedio	± DE	Unidad
Vida de absorción	1.23	0.17	hr
Vida media de eliminación	2.48	2.35	hr
C_{MAX}	0.9	0.26	µg/mL
T_{MAX}	4	0	hr
AUC (área)	0.11	0.05	µg/mL
AUMC (C)	0.13	0.04	µg/mL/mL
MRT	6.5	2.58	hr

C_{MAX}: Concentración máxima observada. **T_{MAX}**: Tiempo a la concentración máxima.
AUC (área): Área bajo la curva. **AUMC (C)**: Área bajo el primer momento de la curva **MRT**: Tiempo medio de residencia.

Cuadro 12.

Parámetros farmacocinéticos individuales del suero FOLA, obtenidos en PKStimulation 2.0

FOLA INDIVIDUAL CERDO					
Valor	Unidad	Cerdo 1	Cerdo 2	Cerdo 3	Cerdo 4
Vida de absorción	hr	1.58	1.85	2.08	1.21
Vida media de eliminación	hr	4.44	4.29	6.32	5.65
C_{MAX}	(µg/mL)	6.3	7.1	7.2	6.8
T_{MAX}	hr	6	6	6	6
AUC (AREA)	(µg/mL)/mL	0.675	0.575	0.55	0.7
AUMC (C)	(µg/mL)/mL	0.55	0.44	0.38	0.55
MRT	hr	10.6	10.3	12.5	13.11

C_{MAX}: Concentración máxima observada. **T_{MAX}**: Tiempo a la concentración máxima.
AUC (área): Área bajo la curva. **AUMC (C)**: Área bajo el primer momento de la curva **MRT**: Tiempo medio de residencia.

Cuadro 13.

Parámetros farmacocinéticos promedio del suero FOLA, obtenidos en *PKStimulation 2.0*

FOLA PROMEDIO CERDOS			
Parámetro	Promedio	± DE	Unidad
Vida de absorción	1.64	0.37	hr
Vida media de eliminación	5.42	1.23	hr
C_{MAX}	6.9	0.40	µg/mL
T_{MAX}	6	0	hr
AUC (AREA)	0.62	0.07	µg/mL/mL
AUMC (C)	0.48	0.08	µg/mL/mL
MRT	17.3	1.38	hr

C_{MAX}: Concentración máxima observada. **T_{MAX}**: Tiempo a la concentración máxima. **AUC (área)**: Área bajo la curva. **AUMC (C)**: Área bajo el primer momento de la curva **MRT**: Tiempo medio de residencia.

A continuación, el Cuadro 14 presenta los parámetros farmacocinéticos orales del florfenicol, así como los resultados del análisis estadístico para ambos grupos.

Cuadro 14.

Parámetros farmacocinéticos orales de florfenicol en cerdos tras dosificarlos vía oral forzada con el florfenicol de referencia (F-r) o con el prototipo de florfenicol en alginato e incluido en FOLAs (FI-a-FOLA) a razón de 10 mg/kg en ambos casos.

PARÁMETRO	GRUPOS			
	F-r bolo Promedio	± DE	FI-a-FOLA bolo	± DE
T_{1/2ab} (hr)	1.23	0.17	1.64 ^s	0.37
T_{1/2β} (hr)	2.48	2.35	5.42 ^s	1.23
T_{MAX} (hr)	4	0	6 ^s	0
C_{MAX} (µg/mL)	0.9	0.26	6.90 ^s	0.40
AUC (µg/mL*h)	0.11	0.05	0.62 ^s	0.07
AUMC (µg/mL*h²)	0.13	0.04	0.48 ^s	0.08
MRT (hr)	6.5	2.58	11.6 ^s	1.38
Fr (%)	100		563.63	

T_{1/2ab} = vida media de absorción; **T_{1/2β}** = vida media de eliminación; **C_{MAX}** = concentración plasmática máxima alcanzada; **T_{MAX}** = tiempo para alcanzar C_{MAX}; **AUC** = área bajo la curva de concentración plasmática de florfenicol/florfenicol amina a lo largo del tiempo; **AUMC** = área bajo la curva de concentración sérica de florfenicol/florfenicol amina a lo largo del tiempo; **MRT** = Tiempo medio de residencia; **AUCT** = área bajo la curva de concentración plasmática de florfenicol/florfenicol amina a lo largo del tiempo por el método trapezoidal. **Fr** = biodisponibilidad relativa, es decir, **Fr = AUC_{Fr} / AUC_{FI-a-FOLA} x 100**. Letra ^s significa diferencia estadística significativa con un parámetro (P < 0,05).

Finalmente, en la Figura 10 se presenta la comparación de concentraciones en suero sanguíneo tanto del grupo de referencia como de la FOLA.

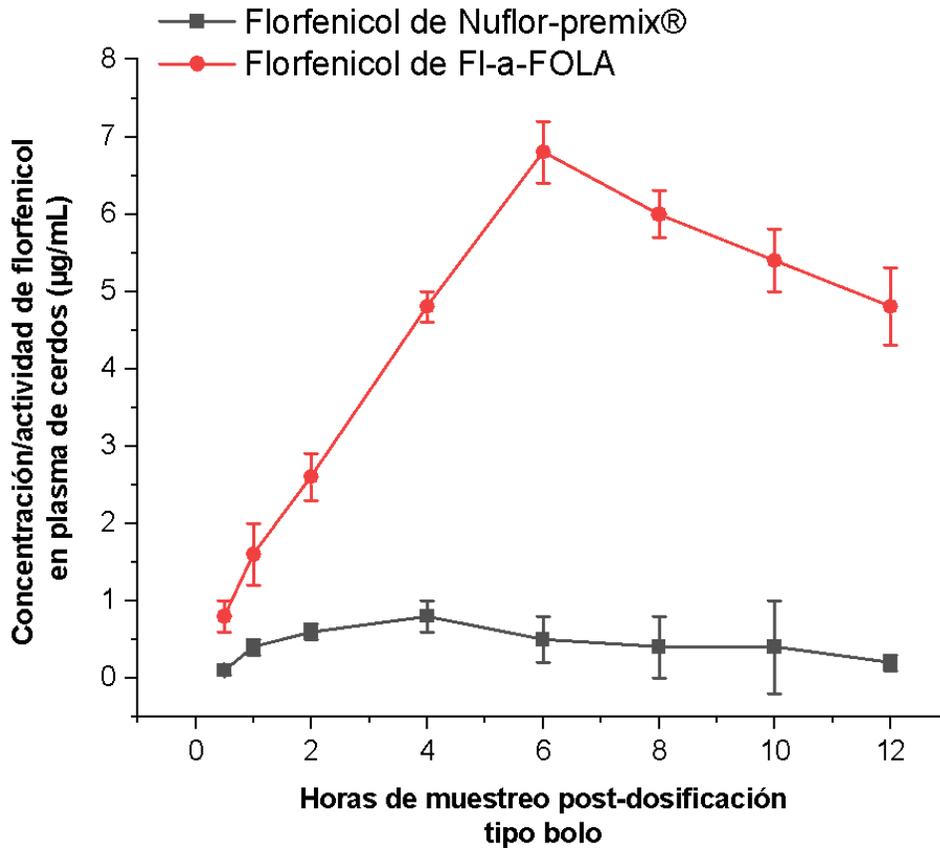


Figura 10. Concentraciones/actividades de florfenicol a nivel sérico en cerdos, habiendo dosificado en bolo (10 mg/kg) el florfenicol y considerando dos presentaciones farmacéuticas: el preparado referente comercial de Nuflor Premix® y un prototipo a base de alginato e incluido en pellets tipo FOLA (FI-a-FOLA).

Los resultados de la fase de dosificación forzada, tipo bolo el referente de Nuflor-Premix® y el prototipo de FI-a-FOLA se presentan en la Figura 11 se presentan los resultados de la regresión de concentraciones crecientes de florfenicol vs. halo de inhibición, utilizando a la bacteria *Actinobacillus 6633* como indicadora.

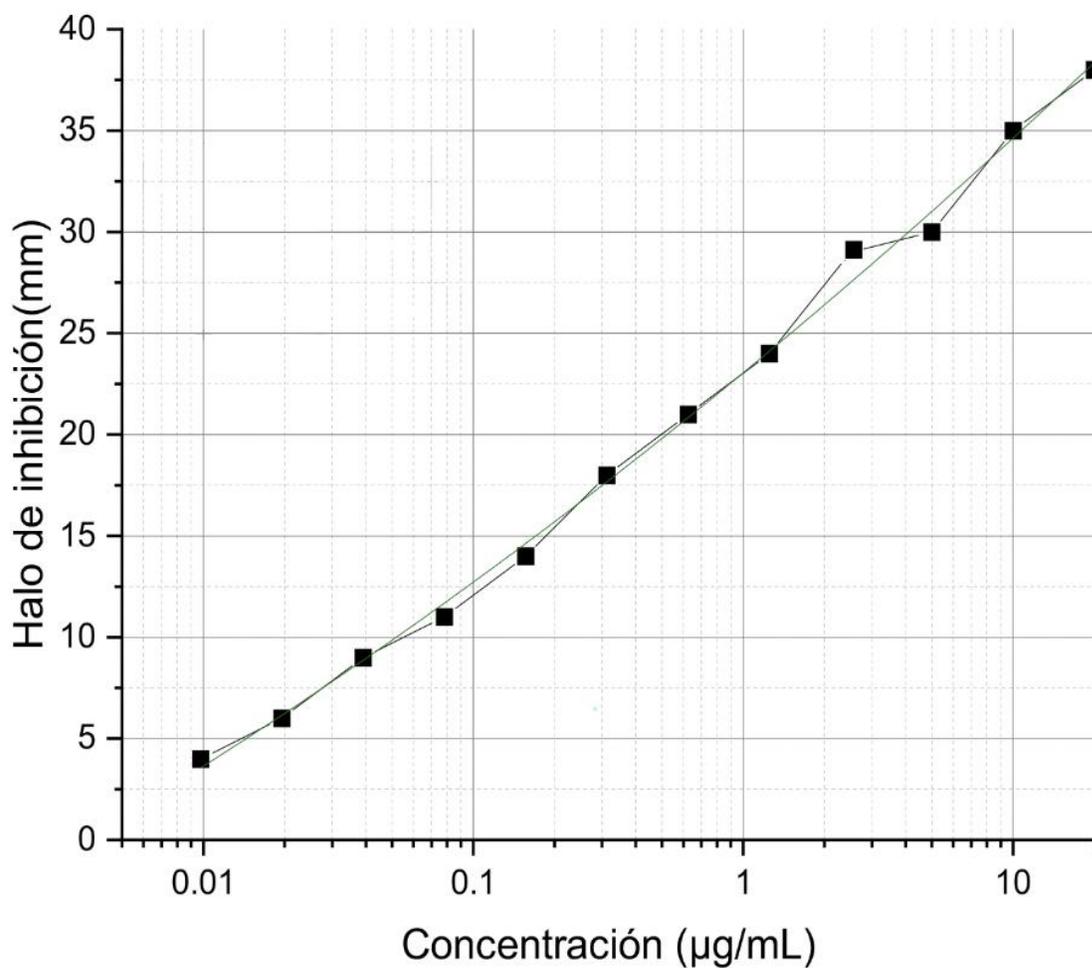


Figura 11. Regresión lineal Semilog₁₀ de florfenicol vs. halo de inhibición para *Actinobacillus 6633*, de acuerdo con lo descrito por Bennet (29)

IX. DISCUSIÓN

En este estudio se evaluaron las concentraciones de florfenicol en el suero de cerdos a los que se les administraron el florfenicol en dos preparados: el de referencia y un preparado farmacéutico diseñado para una liberación modificada - de larga acción, referidos como FOLA (conforme a Patente: INPI/México: No.MX/a/2012/013222 y PCT/MX2013/000137). El objetivo fue determinar la farmacocinética vía oral y con la intención de mejorar la biodisponibilidad del antibiótico a fin de lograr una concentración mayor en plasma y por ende en tejidos diana. Por consiguiente, lograr un efecto tiempo dependiente (Tiempo > CMI), el cual inhibe el crecimiento de los principales patógenos bacterianos que afectan al sistema respiratorio y digestivo como por ejemplo; *Actinobacillus pleuroneumoniae*, *Bordetella bronquiseptica*, *Streptococcus suis*, *Salmonella suis*, (31, 32) por mencionar algunos.

Se diseñó para el prototipo FOLA un recubrimiento de alginato para enmascarar el sabor desagradable del florfenicol. Los cerdos aceptaron el preparado farmacéutico FOLA de manera favorable pese a su gran capacidad de detectar sabores (5). De hecho, su comportamiento fue de interés hacia los pellets y ningún animal presentó salivación aumentada o vómito o rechazo de los pellets.

Con las evaluaciones de palatabilidad favorables, se realizó una comparación entre el preparado de referencia de florfenicol (Nuflor Premix® MSD Salud Animal, México) y el diseño prototipo de florfenicol en FOLA. Los resultados obtenidos tras su administración vía oral a dosis de 10 mg/kg, indican que el grupo tratado con el preparado farmacéutico FOLA, tuvo una vida media de absorción ($T_{1/2ab}$) de 1.64 h. Logró mayores concentraciones séricas, mostrando una concentración máxima (C_{MAX}) promedio de $6.8 \mu\text{g/mL} \pm 0.42 \mu\text{g/mL DE}$ y una T_{MAX} de 6 h. Esta concentración sérica permaneció por arriba de $4.8 \mu\text{g/mL} \pm 0.57 \mu\text{g/mL DE}$ por 12 h, lo que resulta similar a lo encontrado con el mismo diseño farmacéutico de recubrimiento tipo FOLA/alginato (12,13,16,26,31). Este preparado ha demostrado en este estudio una biodisponibilidad superior a lo logrado con un preparado considerado referente y por ende se logran concentraciones necesarias para

permanecer por arriba de los valores de CMI de patógenos de importancia en la especie (considerados de origen 2 µg/mL en este estudio conforme a lo sugerido por diversos autores (26, 31,32) y *Merck Animal Health*). En el presente estudio, la $T_{1/2\beta}$ del prototipo FOLA fue de 5.42 h \pm 1.23, lo cual es una extensión con respecto a la $T_{1/2\beta}$ encontrada para este antibacteriano en otro estudio, que fluctuó entre 2.35 µg/mL \pm 0.31 (34) y demuestra que se logró una acción extendida (LA).

En contraste con lo dicho, los resultados obtenidos de la administración de Nuflor Premix® vía oral a dosis bolo de 10 mg/kg/día, logró un valor de $T_{1/2ab}$ de 1.23 h y una C_{MAX} de 0.85 µg/mL \pm 0.19 g/mL DE y una T_{MAX} de 4 h. Estos datos contrastan con la ficha técnica de Nuflor Premix®³ en la que se describe una C_{MAX} de 5 µg/mL. Esto es, se obtuvo en este ensayo un valor 5.8 veces menor a lo que dicha ficha detalla. Es probable que las diferencias se deban a técnicas analíticas distintas. Las concentraciones séricas logradas por el Nuflor® permanecieron tan solo por arriba de 0.25 µg/mL \pm 0.11 µg/mL DE por 12 h según sus propios datos y sin embargo, también hacen hincapié en que las concentraciones de florfenicol permanecen aproximadamente a 1 µg/mL por 12 h, es decir 4.4 veces menos a lo ya mencionado. Es factible que esto se deba a la subdosificación que ya se detalló en la sección de introducción (pp. 10, 11, 16 y 20), este dato es contrastante con las recomendaciones de dosificación a nivel internacional como se ilustra en el Cuadro 4. Si se considera a la bacteria *Actinobacillus pleuroneumoniae*, uno de los principales organismos patógenos respiratorios de cerdos, cuya CMI es de 0.25 µg/mL, la C_{MAX} , después de las 12 h no cubriría su concentración bacteriostática durante al menos un rango del 60 % al 70% del intervalo de dosificación, aunado a esto su vida media de eliminación fue de 2.48 h. No obstante, con el diseño FOLA/alginato si se podría asegurar la eficacia terapéutica óptima para este organismo causante de pleuroneumonía porcina. La eficacia clínica está directamente relacionada a la relación farmacocinética y farmacodinámica PK/PD, a partir del método de Bennet (29), los resultados de la regresión de concentraciones crecientes de florfenicol vs. halo de inhibición, utilizando a la bacteria *Actinobacillus*

³ <https://www.msd-salud-animal.mx/productos/nuflor-premix/>

subtilis 6633 como indicadora CMI (2.0 µg/mL). Cabe resaltar que el costo de elaboración no representa un costo significativo, su producción es eficaz y se pretende buscar algún laboratorio interesado en la elaboración de las FOLA a mayor escala.

X. CONCLUSIÓN

El preparado farmacéutico FOLA administrado vía oral muestra resultados farmacocinéticos indudablemente mayores al medicamento de referencia, lo que sugiere una mayor eficacia terapéutica dados los valores de concentración, eliminación y área bajo la curva que logra en suero. Se postula que la FOLA puede inhibir a organismos patógenos del aparato respiratorio de cerdos. Es necesario reconsiderar la dosificación propuesta por la ficha técnica de medicamentos referentes, así como continuar las evaluaciones en campo en una segunda fase experimental.

XI. LITERATURA CITADA

1. MDS Salud Animal. Ficha técnica: Nuflor Premix® Reg. SAGARPA Q-0273-155. [Internet]. 2022 [citado el 26 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://www.msd-salud-animal.mx/offload-downloads/nuflor-premix/>
2. Palacios-Arriaga JM, Gutierrez-Pabello JA, Chavez-Gris G, Hernandez-Castro R. Efficacy of Florfenicol Premix in Weaning Pigs Experimentally Infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Rev Latinoam Microbiol (1958) [Internet]. 2000 [citado el 26 de octubre de 2022]; Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2000/mi001e.pdf>
3. Gutiérrez L, Vargas D, Ocampo L, Sumano H, Martínez R, Tapia G. Plasma concentrations resulting from florfenicol preparations given to pigs in their drinking water¹. J Anim Sci. el 1 de septiembre de 2011;89(9):2926–31.
4. Vilaró A, Novell E, Enrique-Tarancón V, Balielles J, Vilalta C, Martínez S, et al. Antimicrobial Susceptibility Pattern of Porcine Respiratory Bacteria in Spain. Antibiotics. el 11 de julio de 2020;9(7):402.

5. Elías-Alejandrí B, Ocampo-Camberos L. 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 de Maestría [Internet]. [Ciudad de México]: Univeridad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2010 [citado el 26 de octubre de 2022]. Disponible en: https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000654855
6. Voorspoels J, D'Haese E, Vervaeet C, De Riemaeker D, Deprez P, Nelis H, et al. Pharmacokinetics of florfenicol after treatment of pigs with single oral or intramuscular doses or with medicated feed for three days. *Veterinary Record*. 1999;145:397–9.
7. García Vaca P, Flores Covarrubias J, Trujillo Ortega ME. Comparación de la Ganancia Diaria de Peso, Conversión Alimenticia y Mortalidad en cerdos de 6 a 20 Kg de peso en dos tipos de Alojamiento. [Internet]. [Ciudad de México]: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.; 1988 [citado el 26 de octubre de 2022]. Disponible en: https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000074199
8. Palacios-Arriaga JM, Gutierrez-Pabello JA, Chavez-Gris G, Hernandez-Castro R. Efficacy of Florfenicol Premix in Weaning Pigs Experimentally Infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Revista Latinoamericana de Microbiologia* (1958). 2000.
9. Swinkels JM, Pijpers SJ, Vernooy A, Verheijden JH. Effects of ketoprofen and flunixin in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Journal Veterinary Pharmacology Therapy*. 1994;17:299–303.
10. Gutierrez L, Lechuga T, Marcos X, García-Guzmán P, Gutierrez C, Sumano H. Comparative bioavailability of enrofloxacin in dogs when concealed in noncommercial morsels, either as tablet or as enrofloxacin–alginate dried beads. *Journal Veterinary Pharmacology Therapy*. 28 de Julio de 2021;44(4):522–32.

11. Gutierrez L, Tapia G, Gutierrez E, Sumano H. Evaluation of a Tasteless Enrofloxacin Pharmaceutical Preparation for Cats. Naive Pooled-Sample Approach to Study Its Pharmacokinetics. *Animals*. 5 de agosto de 2021;11(8):2312.
12. Guzmán-Flores A, Gutiérrez-Olvera L, Sumano-López H. Farmacocinética oral de un preparado farmacéutico de Florfenicol en el alimento, diseñado para larga acción en aves de producción y condiciones de traspatio. [Ciudad de México]: Universidad Nacional Autónoma de México; 2022.
13. Gutierrez-Olvera L, Marcos Benitez X, García-Guzmán P, Monroy-Barreto M, Sumano-López H. Pharmaceutical characterization and pharmacokinetics of florfenicol-loaded alginate dried beads in rabbits. *World Rabbit Science*. 29 de junio de 2022;30(2):153–62.
14. Sumano-López H, Ocampo-Camero L, Gutiérrez-Olvera L. *Farmacología Veterinaria* . 4°. Aranda Salud Animal; 2015.
15. Gutierrez L, Marcos X, Garcia-Guzman P, Monroy-Barreto M, Sumano H. Pharmaceutical characterization and pharmacokinetics of florfenicol-loaded alginate dried beads in rabbits. *World Rabbit Science*. el 1 de abril de 2022;30(2):153–62.
16. Sumano-López H, Gutiérrez-Olvera L. Composición de vehículos y formas farmacéuticas de liberación sostenida y aumento de biodisponibilidad de antibacterianos, anticoccidianos y otros fármacos en aves comerciales y cerdos. [Internet]. México; MX/a/2012/013222, 2017 [citado el 22 de julio de 2023]. Disponible en: <https://patentscope.wipo.int/search/es/detail.jsf?docId=WO2014077666>
17. Florfenicol | C₁₂H₁₄Cl₂FNO₄S - PubChem [Internet]. [citado el 22 de enero de 2023]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Florfenicol#section=Crystal-Structures>
18. Merck Animal Health. <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?pld=393&id=5026482&objectId=1047246>. 2011. Nuflor® 2.3% concentrate solution [product information].

19. Liu J, Fung KF, Chen Z, Zeng Z, Zhang J. Pharmacokinetics of florfenicol in healthy pigs and in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Antimicrobe Agents Chemotherapy*. 1 de febrero de 2003;47(2):820–3.
20. Plumb D, Pharm D. *Manual de Farmacología Veterinaria*. En: Intermedica, editor. 6°. 2010. p. 483–5.
21. Papich M, Riviere J. Chloramphenicol and derivatives, macrolides, lincosamides, and miscellaneous antimicrobials. En: *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 9th ed. Wiley-Blackwell; 2009. p. 945-982.
22. Liu C, Wang SJ, Shao YXiang. Influence of three coccidiostats on the pharmacokinetics of florfenicol in rabbits. *Exp Anim*. 2015;64:73–9.
23. Veterinary Information Network ® Inc. VIN Veterinary Drug Handbook: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?pld=13468&id=7404872&f5=1>. 2017. Florfenicol.
24. FMVZ-UNAM. CEIEEP. 2023. Departamento de Zootecnia Smzy .
25. Mahmood I. Naive Pooled–Data Approach for Pharmacokinetic Studies in Pediatrics with a Very Small Sample Size. *American Journal Therapy* [Internet]. Julio de 2014;21(4):269–74. Disponible en: <https://journals.lww.com/00045391-201407000-00009>
26. Guzmán-Flores A, Gutiérrez-Olvera L, Sumano-López H, Monroy-Barreto M. Farmacocinética oral de un preparado farmacéutico de Florfenicol en el alimento diseñado para larga acción en aves de producción y condiciones de traspatio. *FMVZ - UNAM*; 2022.
27. Gutierrez Olvera L, Marcos Benitez X, García-Guzmán P, Monroy-Barreto M, Sumano H. Pharmaceutical characterization, and pharmacokinetics of florfenicol-loaded alginate dried beads in rabbits. *World Rabbit Science*. el 29 de junio de 2022;30(2):153–62.
28. Framstad T, Øystein S, Aass R. Norway’s National Consensus Platform for the advancement of Replacement Reduction and Refinement NORECOPA. 2023

[citado el 6 de diciembre de 2023]. Bleeding, and intravenous techniques in pigs. Disponible en: <https://norecopa.no/education-training/other-teaching-materials/pig-bleeding>

29. Bennett J, Brodie J, Benner E, Kirby W. Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. *Applied Microbiology*. 1966;14(2):170–7.
30. Abd El-Aty AM, Goudah A, Abo El-Sooud K, El-Zorba HY, Shimoda M, Zhou HH. Pharmacokinetics and Bioavailability of Florfenicol Following Intravenous, Intramuscular and Oral Administrations in Rabbits. *Veterinary Resources Community*. agosto de 2004;28(6):515–24.
31. Aguilar-Acevedo J, Gutiérrez-Olvera L. Elaboración de un preparado inteligente de liberación controlada de Florfenicol en caprinos. *FMVZ*; 2009.
32. Román-Buendía ME. Farmacocinética oral y parenteral del solvato de Enrofloxacin Clorhidrato-dihidrato (Enro-C) en cerdos. *FMVZ - UNAM*; 2022.
33. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. NORMA Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/1055/SEMARNA/SEMARNA.htm> Mexico: Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en materia de Residuos Peligrosos; 2005.
34. Gutierrez, L., Guzman-Flores, A., Monroy-Barreto, M., Ocampo, L., Sumano H. Oral pharmacokinetics of a pharmaceutical preparation of florfenicol in broiler chickens. *Frontiers in Veterinary Science*. (2023)
35. Pallarés F, Gómez J, Ruedas I, Sánchez J, Larenas F, Rodríguez I, et al. Artículos de porcicultura relacionados con sanidad, manejo, reproducción y genética, nutrición, manejo ambiental. 2020. Impacto económico de los procesos neumónicos en porcino. Consultado el 3/02/24 en: https://www.3tres3.com/es-mx/articulos/impacto-economico-de-los-procesos-neumonicos-en-porcino_3348/ .

36. Sánchez Betancourt JI. Evaluación del Florfenicol en cerdas con descargas vaginales de origen bacteriano. [Ciudad de México]: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. 2001.

XII. ANEXOS

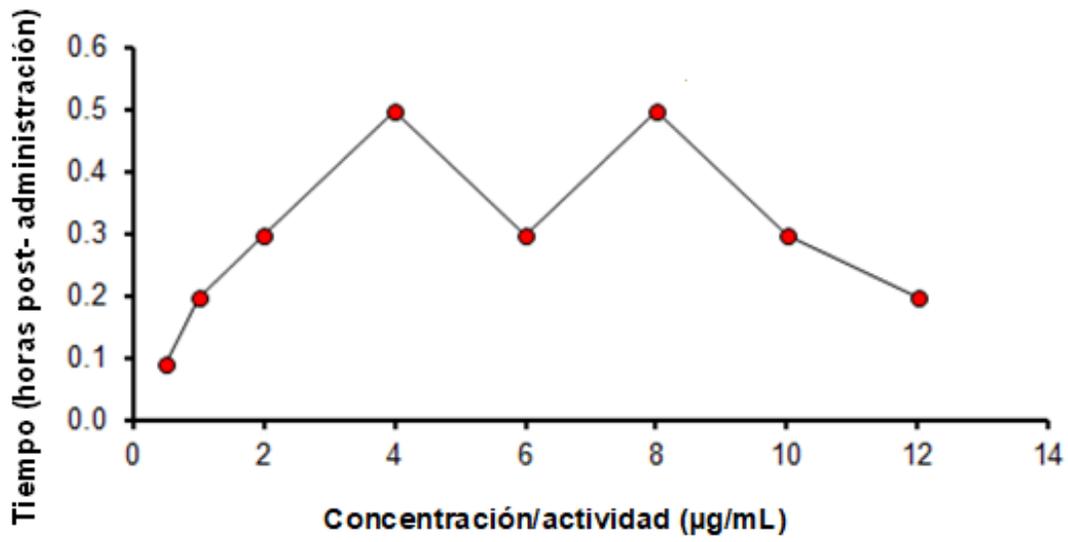


Figura 12. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #1 con el preparado de referencia a dosis de 10 mg/kg

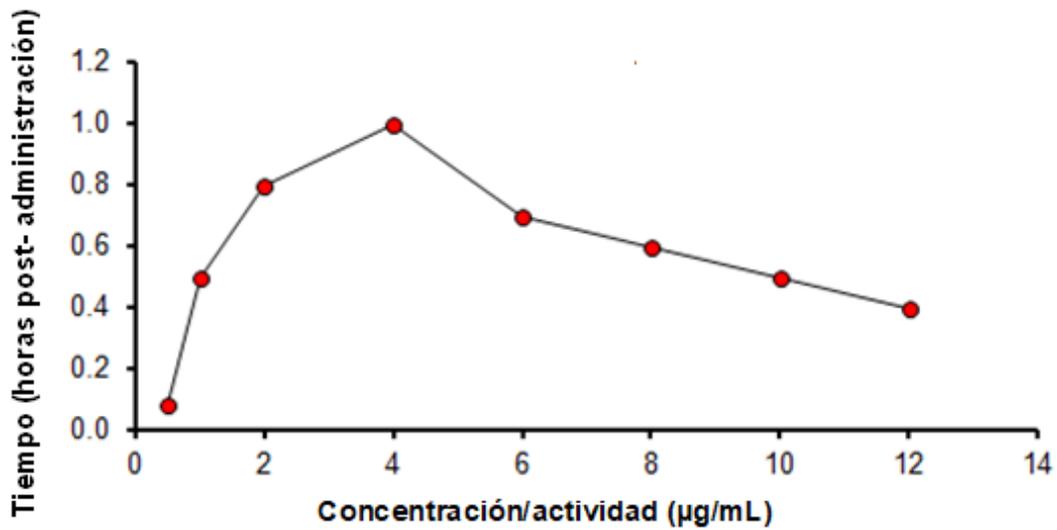


Figura 13. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #2 con el preparado de referencia a dosis de 10 mg/kg

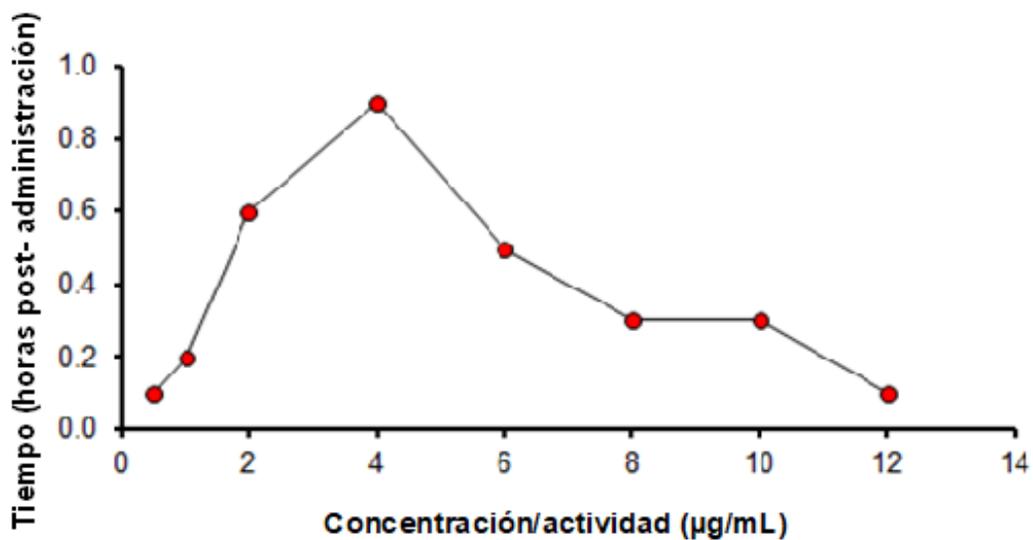


Figura 14. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #3 con el preparado de referencia a dosis de 10 mg/kg

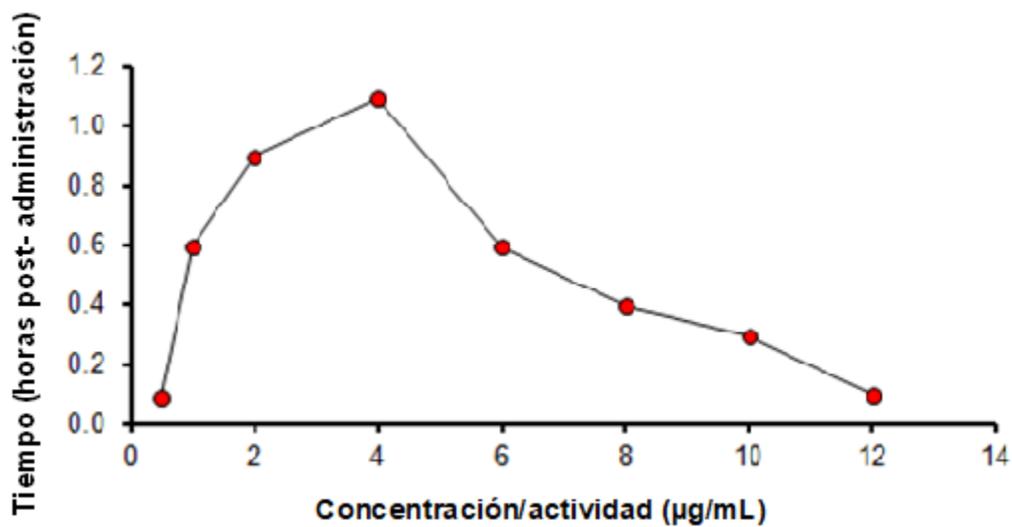


Figura 15. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #4 con el preparado de referencia a dosis de 10 mg/kg

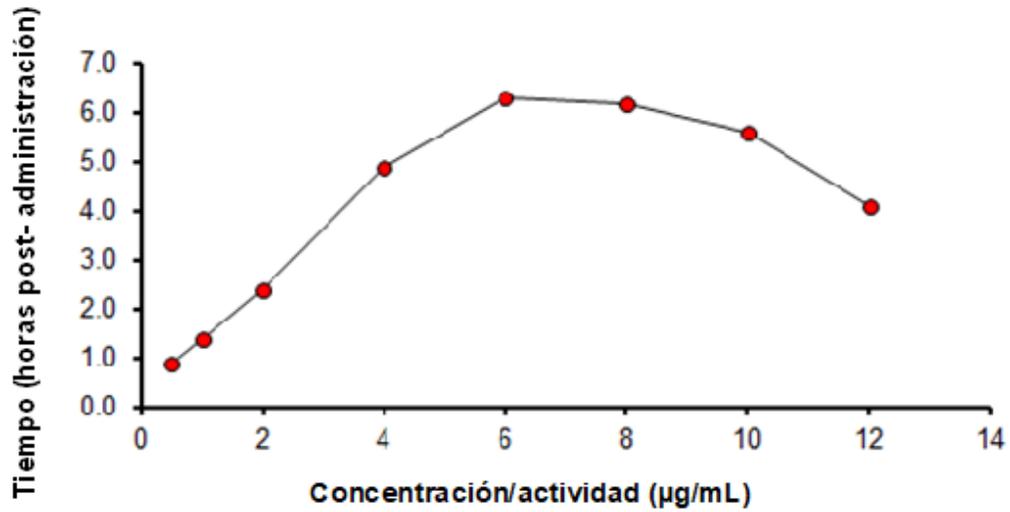


Figura 16. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #1 con el preparado FOLA a dosis de 10 mg/kg

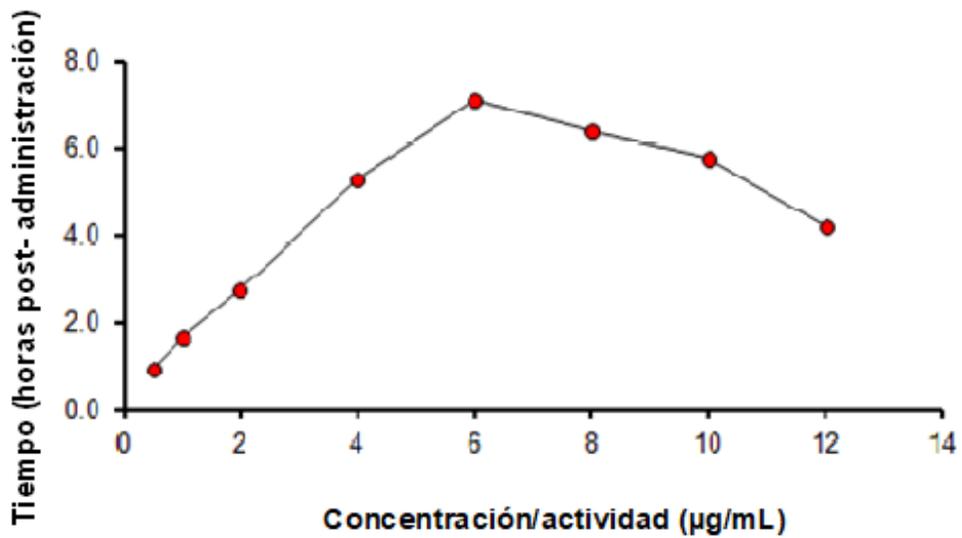


Figura 17. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #2 con el preparado FOLA a dosis de 10 mg/kg

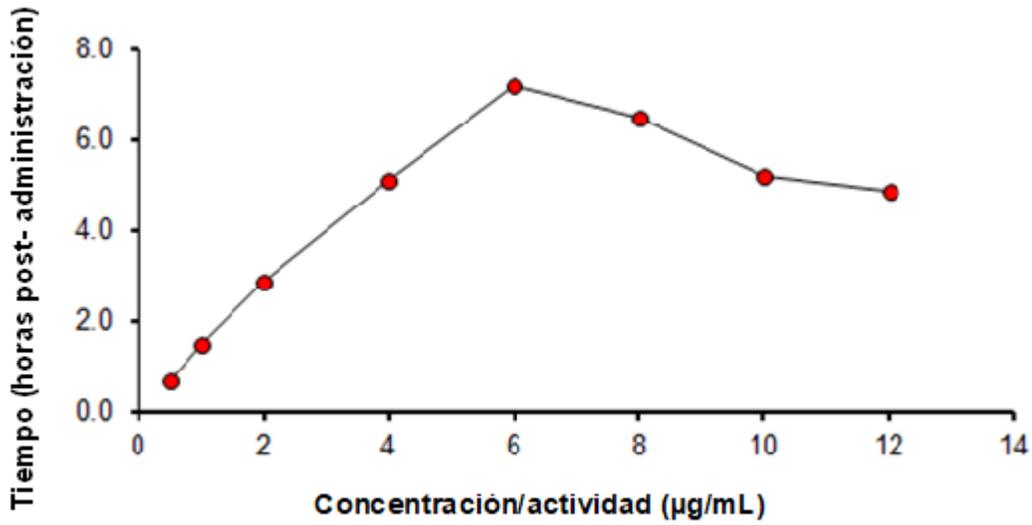


Figura 18. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #3 con el preparado FOLA a dosis de 10 mg/kg

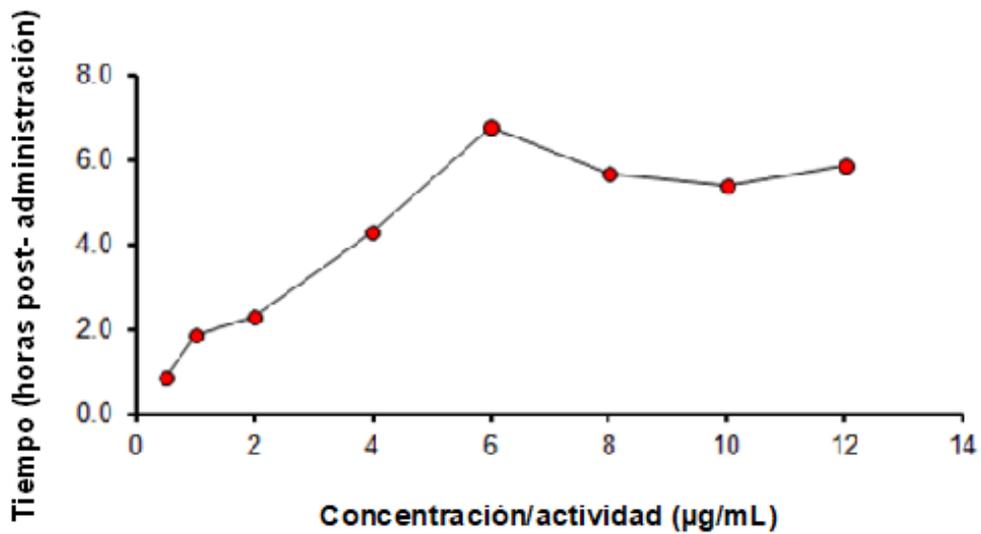


Figura 19. Curva de concentraciones vs tiempo del Cerdo #4 con el preparado FOLA a dosis de 10 mg/kg