

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACIÓN DE PERFILES SÉRICOS DE DOS  
PRESENTACIONES COMERCIALES DE ENROFLOXACINA EN  
BOVINOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A:

**SUSANA JUÁREZ REYES**

ASESORES:

**DRA. LILIA GUTIÉRREZ OLVERA  
MVZ. MC. ISMAEL MARTÍNEZ CORTÉS**

**MÉXICO, D.F.**

**2013**



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 Victor Ángel Juárez Olgúin y mi madre María de Jesús Reyes Anaya, por su apoyo, confianza y amor incondicional en cada etapa de mi vida. Siempre serán mi ejemplo a seguir y la fuerza que me permita continuar.

A mis hermanas Maribel y Angélica; su amor me impulsa a crecer y mejorar día con día, para poder ser un digno ejemplo de ustedes.

A mis tías, abuelas y abuelo, por amarme, cuidarme, educarme y apoyarme tal y como si fuera su hija. Gracias a ustedes tanto como a mis padres, he logrado alcanzar mis metas.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A Alma Aline Ramírez García, por su amistad y cariño incondicional. Gracias por tus consejos sinceros, paciencia y comprensión, a lo largo de estos años.

A Lizandra Nájera Casasola, quién más que una amiga la considero como mi hermana, y por tal, siempre tendrá mi gratitud por haberme cuidado, procurado y haberme brindado de manera incondicional su apoyo, amistad y cariño. No tengo manera de agradecer que nunca te rindieras conmigo en los momentos de necesidad y tristeza. Siempre me encontraré agradecida contigo y tu mamá por permitirme formar parte de su vida y familia.

A Myriam Sánchez Landeros, por orientarme y brindarme su consejo y enseñanzas en el desarrollo de este trabajo, y sobre todo por ofrecerme su amistad y cariño sincero. Por ti entendí, que el valor de las cosas no está en el tiempo que ellas duran, sino en lo intenso con que suceden y que por eso, existen momentos inolvidables, cosas inexplicables y personas incomparables en la vida. Tú eres eso para mí. Gracias.

En especial a las tres, les agradezco por formar parte de mi vida, a motivarme a continuar y por todos y cada uno de los momentos que me han permitido compartir a su lado. Parte de ustedes siempre la llevaré conmigo.

## AGRADECIMIENTOS

A PARFARM, S.A, por haber brindado el financiamiento y facilitado el producto farmacéutico evaluado.

A mi asesora y muy estimada Dra. Lilia Gutiérrez Olvera y mi asesor MVZ MC Ismael Martínez Cortés, por qué sin ustedes, sus valiosos consejos, su constante orientación, dedicación, apoyo y confianza brindada, no hubiera logrado dar este gran paso. Mi gratitud eterna para ambos.

A la señora Feliza Carlota González González, por su apoyo y enseñanzas en el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Jorge Ávila García (QDEP), por haberme brindado la oportunidad de trabajar a su lado y contribuir enormemente en mi formación profesional; y Leopoldo “Polo” por ser paciente, orientarme y ser un gran amigo. Siempre tendré presente sus enseñanzas y amistad.

Al MVZ. MC. Eduardo Posadas Manzano, con quien siempre me encontraré agradecida debido a su apoyo, confianza y por procurar que continuara superándome diariamente.

Al MVZ. MPA. Edgardo Canizal Jiménez, quién en todo momento no dejo desistir y supo aconsejarme, no sólo en el ámbito profesional sino también en el personal. Gracias por sus enseñanzas, sus valiosas enseñanzas y preciada amistad.

Al MVZ. MPA. Miguel Ángel Quiroz Martínez por contribuir a mi formación profesional y por sus consejos.

Al MVZ. Ricardo Zamudio Valdez por contribuir continuamente a mi educación y por su amistad incondicional a lo largo de estos años.

Un agradecimiento especial a la Dra. Ada Nelly Martínez Villalobos quien me brindó sus consejos sinceros y oportunos así como sus valiosas enseñanzas, que me permitieron enriquecer este trabajo.

## CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>2</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>14</b>
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>20</b>
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>21</b>
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>25</b>
<b>ANEXO I</b> .....	<b>29</b>
<b>ANEXO II</b> .....	<b>30</b>
<b>ANEXO III</b> .....	<b>36</b>

## RESUMEN

JUÁREZ REYES SUSANA. **Evaluación de perfiles séricos de dos presentaciones comerciales de enrofloxacin en bovinos. (Bajo la dirección de Dra. Lilia Gutiérrez Olvera y de MVZ MC Ismael Martínez Cortes).**

El objetivo del presente estudio fue evaluar los perfiles farmacocinéticos del Producto Original (Baytril Max®) y el Prototipo "A", posterior a la aplicación IM a dosis de 7.5 mg/kg, para determinar si el Prototipo "A" es bioequivalente y cumple con los requisitos de la (PK/PD) para enrofloxacin. Se utilizaron 16 bovinos clínicamente sanos; con pesos aproximados de 200 kg tipo F1 (Cebú/Holstein). Se dividieron aleatoriamente en 2 grupos de 8 animales cada uno. El grupo 1 recibió el tratamiento T1, a dosis de 7.5 mg/kg IM del Producto Original al 10% (máximo 15 mL/sitio de aplicación). El grupo 2 recibió el tratamiento T2, a dosis de 7.5 mg/kg IM del Prototipo "A" al 10% (máximo 15 mL/sitio de aplicación). El análisis cuantitativo para identificar enrofloxacin en las muestras séricas, fue la metodología microbiológica descrita por Bennet *et al* (1966) utilizando como microorganismo particularmente sensible, una cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli*. El análisis farmacocinético y estadístico se realizó considerando la metodología estadística descrita por Rani y Pargal (2004) con modelos de farmacocinética compartamental del programa PKAnalyst® de Micromath. Los valores farmacocinéticos de  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ , AUC, AUMC,  $T_{1/2\beta}$ , se evaluaron mediante la prueba de ANOVA y Kruskal-Wallis. Los resultados del Prototipo "A" fueron:  $C_{max}$   $2.9 \pm 0.4$  µg/mL,  $T_{max}$   $4.1 \pm 0.06$  h, AUC  $85.6 \pm 1.0$  µg/mL/h y  $T_{1/2\beta}$   $0.036 \pm 0.004$  h.; y del Producto Original fueron:  $C_{max}$   $2.2 \pm 0.13$  µg/mL,  $T_{max}$   $2.08 \pm 0.05$  h, AUC  $13.6 \pm 0.7$  µg/mL/h y  $T_{1/2\beta}$   $0.027 \pm 0.002$ . Dichos resultados muestran diferencias significativas entre ambos productos ( $P \geq 0.05$ ), evidenciando que el Prototipo "A" es superior al Producto Original.

Se concluye que el producto ENROFLOXACINA GENERICO (Prototipo "A") **es no bioequivalente** a BAYTRIL Max®, ya que es **superior a BAYTRILMax® en las variables de  $C_{max}$  y AUC**, debido a que logra cubrir los requisitos PK/PD para la enrofloxacin, lo cual la convierte en un producto original.

## **INTRODUCCIÓN**

En el ejercicio privado de la profesión del médico veterinario, existen diversos puntos de conflicto en la toma de decisiones, sobre todo en el que se refiere a la terapéutica clínica; tal es el caso de la selección adecuada de fármacos para la terapia antibacteriana de cualquiera de los problemas clínicos que se presentan en una unidad de producción. El mercado de los antibacterianos es uno de los más importantes para los laboratorios farmacéuticos de línea veterinaria; una evidencia clara de ello es el número de presentaciones comerciales que se pueden encontrar disponibles de cada antibacteriano.<sup>1</sup> Debido a la gran demanda de dichos antibióticos y la competencia por precios, en muchos países se lleva a cabo la sustitución de medicamentos originales (de referencia) por medicamentos genéricos (símiles o intercambiables).<sup>2</sup>

## **BIOEQUIVALENCIAS**

En las últimas décadas el uso de medicamentos genéricos ha ido en aumento con la justificación de hacer económicamente más accesible la compra de antibacterianos y reducir de alguna manera los costos sanitarios; como consecuencia, al existir una mayor disponibilidad de medicamentos, el médico veterinario se encuentran con un gran número de productos de fuentes múltiples, de los cuales tendría que seleccionar el producto que le pueda brindar una mayor efectividad terapéutica a un menor costo, para mantener la rentabilidad de la producción.<sup>3</sup>

Durante mucho tiempo se consideró que dos productos genéricos de diferente marca, al administrarse en la misma cantidad de principio activo, deberían ser igualmente eficaces en la práctica clínica, sin embargo, no siempre sucede así, como han demostrado los recientes avances de la farmacocinética y estudios de bioequivalencias.<sup>4</sup>

La falta de la actividad terapéutica, así como el aumento o surgimiento de resistencias bacterianas, ha motivado a la comunidad veterinaria mundial a la implementación de normas para garantizar la calidad de los productos farmacéuticos disponibles para el médico veterinario<sup>5</sup>, condición que resulta esencial, ya que obliga a los fabricantes de productos genéricos a demostrar que son intercambiables o bioequivalentes, con respecto al producto de referencia u original.

Se puede establecer intercambiabilidad mediante varios métodos, idealmente se debe elegir el más exacto, sensible y reproducible. A efecto de llevar a cabo la intercambiabilidad o sustitución de productos, es necesario contar con evidencia científica que permita conocer el desempeño farmacocinético de un preparado similar al de referencia. La intercambiabilidad entre dos productos se puede basar en criterios farmacocinéticos, farmacodinámicos y clínicos. Entre los criterios farmacocinéticos aceptados científicamente, el más común se conoce con el nombre de bioequivalencia.<sup>2,5,6,7</sup> En orden decreciente de exactitud, sensibilidad y reproducibilidad los métodos para establecer intercambiabilidad o bioequivalencia son:

- **Estudios farmacocinéticos.** Estudios de biodisponibilidad y perfiles farmacocinéticos, para establecer bioequivalencias.<sup>7</sup>
- **Estudios clínicos.** También denominada como equivalencia terapéutica; la cual corresponde a la ausencia de una diferencia clínicamente significativa, mediante evaluaciones de desafíos en campo. Estas evaluaciones establecen únicamente intercambiabilidad.<sup>5,7</sup>
- **Estudios *in vitro*:** Aplica a fármacos de alta solubilidad en agua o a dosis menores de un mismo preparado, tanto para los vehículos como para el principio activo (PA) que ya sea intercambiable, siempre y cuando el perfil farmacocinético del fármaco sea lineal, que la diferencia entre dosis sea debida a diferencias en la cantidad de PA y que la composición de las formulaciones sea cualitativamente idéntica (PA y vehículos). Establecen únicamente intercambiabilidad.<sup>7</sup>

Los conceptos de bioequivalencia e intercambiabilidad son considerados como sinónimos, sin embargo, un producto bioequivalente sí es intercambiable, pero un producto intercambiable no forzosamente es bioequivalente. Según la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), se consideran dos productos bioequivalentes cuando la biodisponibilidad es igual;

esto es, que la velocidad y el grado o magnitud en el que el principio activo o el ingrediente terapéutico es absorbido y se encuentra disponible en la sangre o sitio de acción en una matriz biológica, a partir de la misma vía de administración, con la misma presentación farmacéutica y a la misma dosis, asegurando así que la eficacia y seguridad de ambos sea esencialmente la misma.<sup>8,9,10,11</sup> En cambio, la intercambiabilidad demuestra únicamente igualdad química. Una intercambiabilidad se define por SAGARPA como: producto farmacéutico que contienen el o los mismos principios activos en similar forma farmacéutica para la misma vía de administración y cumplen con los requisitos establecidos en la farmacopea de identidad, potencia, pureza, uniformidad del contenido, velocidad de disolución, etc., aunque los ingredientes inactivos, vehículos o excipientes, puedan diferir entre sí; la cual puede ser demostrada, mediante pruebas de disolución o también mediante evaluaciones de efectividad clínica.<sup>8,9,10,11,12</sup>

Existen principios activos a los cuales no es necesario realizarles evaluaciones de intercambiabilidad, y se les denomina como bioexenciones; esto es, que sean preparados de disolución rápida por vía oral y que contengan principios activos que se solubilicen en menos de 1 hora y se absorban por lo menos el 85% en no más de 2 horas en monogástricos y hasta 4 en rumiantes.<sup>7</sup>

Tomando en cuenta lo antes mencionado queda en evidencia que la demostración de bioequivalencia o intercambiabilidad asegura un uso racional de los fármacos con la evidente efectividad terapéutica de los medicamentos genéricos<sup>5,13</sup>.

Los estudios de bioequivalencia, pueden ser utilizados cuando:

1. Es necesario solicitar la autorización de comercialización de fármacos genéricos.<sup>7</sup>
2. Cuando un laboratorio innovador cambia la formulación, la vía de administración, la forma farmacéutica o cuando se introducen cambios en el proceso de manufacturado que podrían afectar la biodisponibilidad del fármaco.<sup>7</sup>

Al realizar estudios de bioequivalencias se busca que la biodisponibilidad de él o los productos evaluados no difieran  $\pm 20\%$  con respecto al de referencia, esta tolerancia es aceptada debido a que no presenta consecuencias clínicas relevantes en un tratamiento.<sup>2</sup> El sobrepasar estos límites en mayor o menor grado genera diferencias clínicamente relevantes en la intensidad del efecto terapéutico o en efectos colaterales. Por ejemplo, se ha informado de efectos tóxicos sobre el sistema nervioso, cardiovascular, gastrointestinal, condrotoxicidad, problemas reproductivos y de desarrollo, al usar quinolonas en humanos. Debido a que la enrofloxacin origina patologías de origen secundario, ha sido prohibido su uso en humanos, aunque se emplea habitualmente en animales como antibiótico de amplio espectro.<sup>14,15,16</sup>

Los principales parámetros de biodisponibilidad evaluados para definir la existencia o falta de bioequivalencias son:<sup>2,7</sup>

- Concentración máxima (Cmax)
- Área bajo la curva (AUC)
- Relación Cmax/AUC
- Vida media de eliminación (T1/2  $\beta$ )
- Tiempo máximo (Tmax)

Estas variables permiten la cuantificación de la cantidad y velocidad de absorción y tasa de eliminación del fármaco.<sup>2,7</sup>

Dos productos que han demostrado ser intercambiables o bioequivalentes suponen un igual desempeño clínico<sup>5</sup>. El hecho de que algunos medicamentos no son iguales al medicamento original, no los hace necesariamente inferiores clínicamente siempre, a menudo sólo los hace distintos y deberán ajustarse para dar lugar a nuevas indicaciones o incluso para ponderar sus diferencias.<sup>4</sup>

Las pruebas de bioequivalencia tiene ventajas significativas para el uso racional de fármacos en medicina veterinaria, entre ellas se pueden mencionar:<sup>7</sup>

- Promover la calidad en el proceso de manufacturado para poder garantizar la salud animal

- Promover la salud pública al contribuir a la prevención de residuos nocivos de fármacos en los productos alimenticios de origen animal.
- Facilitar el uso racional de los antimicrobianos de alto impacto en salud pública y animal

## **ENROFLOXACINA**

La enrofloxacin es un derivado fluorinado del núcleo quinolin-ácido carboxílico desarrollado para uso exclusivo veterinario. Revolucionó la terapéutica de las enfermedades bacterianas, por lo que aún es considerado como uno de los antibacterianos más potentes utilizado a la fecha en medicina veterinaria<sup>17</sup>. Tanto en la década de los 80's, 90's y aún a la fecha, se hace evidente el incremento en el uso de este antibacteriano en unidades ganaderas.<sup>18</sup> Su mecanismo de acción es a partir de la inhibición de la subunidad A de la enzima topoisomerasa II (ADN girasa bacteriana), la cual es vital para la replicación de los ácidos nucleicos bacterianos ya que está implicada en el desenrollado, corte, y sellado del ADN. La inhibición de dicha enzima, conduce a una muerte celular en las bacterias.<sup>17,29</sup>

Por sus características farmacológicas, es de empleo frecuente para el tratamiento de una amplia variedad de patologías bacterianas de los animales domésticos<sup>17</sup>, es eficaz en bacterias que son resistentes a los aminoglucósidos,  $\beta$ -lactámicos, tetraciclinas, antagonistas del ácido fólico y macrólidos<sup>20</sup>. Su espectro de actividad es bueno contra bacterias Gram (-) como: *Escherichia coli*, *Histophilus* spp,

*Pasteurella* spp con excepción de *Pseudomonas aeruginosa*, y presenta una potencia menor contra bacterias Gram (+), pero mantiene buena actividad terapéutica contra algunas cepas de *Streptococcus* spp, *Staphylococcus* spp y *Erysipelothrix rhusiopathiae* entre otras. Presenta una acción importante contra bacterias intracelulares como *Mycoplasma* spp, *Chlamydia* spp, *Mycobacterium* spp y *Nocardia* spp.<sup>22,23</sup>

El rango de dosificación varía de 5 - 7 mg/kg/día con presentaciones al 10%, pero recientemente se llegó a utilizar a dosis de 10 mg/kg/día, el ajuste de las dosis es debido a la eficacia clínica que ha presentado en campo al ser un fármaco concentración dependiente.<sup>18</sup> La enrofloxacin se metaboliza a nivel hepático en ciprofloxacina, que es una quinolona de segunda generación de uso en medicina humana.<sup>18,22</sup> Presenta una vida media larga (1-7 h aproximadamente) y amplio volumen de distribución. Después de la administración SC o IM a dosis de 5-7 mg/kg se logran una C<sub>max</sub> de 0.8 a 3 µg/ml entre 1 a 4 horas.<sup>21</sup> Las fluoroquinolonas son antibacterianos concentración dependientes, los cuales requieren lograr una C<sub>max</sub> >10 a 12 veces la CMI o y se ha establecido una relación del AUC<sub>24h</sub>/CMI > 125 contra cepas de campo para predecir una buena eficacia terapéutica y cubrir la relación PK/PD (farmacocinética/farmacodinámica) requerida para este tipo de antibacterianos.<sup>6,24</sup>

En resumen, el uso indiscriminado, la existencia de presentaciones similares de dudosa calidad (falta de bioequivalencias) disponibles en el mercado, así como el uso clínico descuidado en campo de este antibacteriano puede contribuir al surgimiento de resistencias bacterianas, como consecuencia a la reducción de su eficacia clínica y finalmente a terminar con uno de los antibacterianos de mayor y exclusiva utilidad en la medicina veterinaria.<sup>6,13,18,25</sup>

## JUSTIFICACIÓN

Para poder llevar a cabo la sustitución de un medicamento, se debe disponer de evidencia científica que nos permita conocer que las características farmacocinéticas y farmacodinámicas son equivalentes entre un preparado sustituto en relación a uno de referencia, y por lo tanto, que cuentan con la misma efectividad.<sup>26</sup> Dado lo anterior, es indispensable realizar estudios de bioequivalencia para garantizar que el intercambio de un medicamento comercial a otro, no sea en perjuicio del tratamiento establecido para un paciente.

En el mercado mexicano se encuentran disponibles una gran cantidad de enrofloxacinas similares, de las cuales no están justificadas sus bioequivalencias<sup>19,27,28</sup>, por lo que podemos resaltar la importancia del presente trabajo, en el cual se pretende generar información de utilidad sobre la farmacocinética de dos formulaciones de enrofloxacin disponibles en México y de esta manera poder comprobar su bioequivalencia farmacéutica y su bioequivalencia terapéutica.

## **HIPÓTESIS**

El preparado farmacéutico designado como Prototipo "A", a base de enrofloxaciná incluida en vehículos poliméricos que proporcionan liberación modificada, será bioequivalente, al preparado de referencia (Baytril Max®, Bayer de México).

## **OBJETIVO GENERAL**

El objetivo de este trabajo es evaluar los perfiles farmacocinéticos del preparado de referencia (Baytril Max®) y el Prototipo "A", posterior a la aplicación intramuscular (IM) a una dosis de 7.5 mg/kg, para determinar si el Prototipo "A" es bioequivalente y cumple con los requisitos de la (PK/PD) para enrofloxacin.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Sitio de experimentación**

Este estudio se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) de la Facultad de Medicina, Veterinaria y Zootecnia, UNAM; ubicado en el municipio de Tlapacoyán, del estado de Veracruz, México.

### **Grupo de estudio**

Se trabajó con 16 bovinos clínicamente sanos, machos y hembras; con pesos aproximados de 200 kg tipo F1 (Cebú/Holstein). Los parámetros de inclusión para la elección de los animales fueron:

- No haber recibido ningún tipo de medicación por lo menos durante 3 semanas previas al estudio.
- No presentar signología clínica de enfermedad (animales clínicamente sanos).
- No presentar una variación en peso  $\pm$  20 Kg.

Los animales fueron divididos aleatoriamente en 2 grupos de 8 animales cada uno (Cuadro 1):

- Los animales del grupo 1 recibieron el tratamiento 1 (T1), el cual consistió en la aplicación de una dosis de 7.5 mg/kg por vía IM del producto de referencia al 10% (no más de 15 mL/sitio de aplicación).
- Los animales del grupo 2 recibieron el tratamiento (T2), el que consistió en la aplicación de una dosis de 7.5 mg/kg por vía IM del Prototipo A (genérico) al 10% (máximo 15 mL/sitio de aplicación).

Una vez elegidos los animales y separados en grupos, estos fueron alojados durante todo el tiempo de estudio en potreros, recibieron alimentación conforme al manejo normal del rancho (pastoreo, suplementación con sales minerales en saladeros y acceso a bebederos *ad libitum*).

## **Toma de muestras**

La obtención de muestras sanguíneas se obtuvo de la vena yugular por medio de un catéter largo heparinizado de calibre #18 en los siguientes tiempos: **basal, 0.5 (30 minutos), 1, 2, 4, 10, 24, 48, 72, 96 y 120 horas**. Fueron obtenidos de 3–5 mL de sangre por animal en cada tiempo de muestreo.

Inmediatamente después de obtenidas las muestras, fueron centrifugadas a 3000 rpm/15 minutos, para posteriormente separar el suero. Cada muestra fue identificada de acuerdo al número de registro del animal, grupo de prueba y hora de muestreo; y posteriormente se mantuvieron en congelación a -20 °C hasta el momento de su análisis.

Al concluir este ensayo, los animales continuaron dentro de los programas productivos del CEIEGT-FMVZ-UNAM, evitando que entraran a la cadena alimenticia, en los 4 meses posteriores al estudio.

### **Método analítico**

Para la identificación de enrofloxacin en las muestras séricas, se utilizó la metodología microbiológica descrita por Bennet *et al* (1966)<sup>29</sup>. Dicho método resulta altamente confiable (99%) comparado con el HPLC, según lo descrito por Küng *et. al* (1993)<sup>30</sup>; como microorganismo particularmente sensible se utilizó una cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli*.

La fase analítica/cuantitativa se realizó en el Departamento de Fisiología y Farmacología de la FMVZ-UNAM, dentro de los primeros 20 días posteriores a la obtención de las muestras.

### **Fortificaciones**

Con la finalidad de establecer los porcentajes de recuperación y límites de cuantificación del método analítico propuesto, se realizaron fortificaciones de plasma obtenido de bovinos no tratados con fármaco alguno.

## Estándares de referencia

- 1) **Solución madre de enrofloxacin (200 µg/mL).** Para la preparación de esta solución, se adicionaron 20 mg de la sal estándar de referencia de enrofloxacin a un matraz volumétrico de 100 mL, posteriormente se adiciono 1 mL de una solución 1 molar de KOH y se aforó con agua desmineralizada.
- 2) **Estándar intermedio.** La solución de *enrofloxacin* de 20 µg/mL es preparada pipeteando 1 mL de la solución madre en un matraz volumétrico de 10 mL y se diluye a volumen con la muestra, mezclar bien. Se considera ésta como estable por 2 semanas a 4°C en frasco ámbar.
- 3) **Soluciones de la curva estándar.** Las soluciones de la curva estándar se preparan directamente de la solución intermedia o madre, preparadas por diluciones volumétricas del estándar de fortificación 20 µg/mL usando el diluyente de la muestra (agua desionizada). Para las soluciones de 0.078125, 0.15625, 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 y 20 µg/mL se realizaron diluciones volumétricas sucesivas de 1:1 a partir del estándar intermedio 2.5 ml a 5 mL respectivamente. Estas soluciones se consideran estables por 2 semanas a 4°C en frascos ámbar.
- 4) Se corrieron curvas de las matrices analíticas para descartar interferencias en el método analítico (Figura 1 y Cuadro 2).

## **Estandarización del método analítico**

El método analítico de actividad/concentración establecido se basó en que la enrofloxacin y su principal metabolito la ciprofloxacina poseen una actividad antibacteriana que sigue una linealidad de concentración. El método analítico elegido detecta **sin diferenciar** la presencia de enrofloxacin y sus metabolitos activos, dado lo cual la regresión lineal representa la suma de ellos.<sup>30,31</sup>

## **Fortificaciones**

Para establecer el grado de recuperación de enrofloxacin en el suero de bovino y el límite de detección y cuantificación se realizaron fortificaciones con 100 mL de plasma libre de fármaco. Inicialmente se corrieron 3 muestras de suero de los animales no tratados para asegurar que no tuvieran tratamiento alguno. Se utilizaron las siguientes diluciones de enrofloxacin en suero bovino de 0.039, 0.078125, 0.15625, 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 y 20 µg/mL. (Cuadro 3)

## **Análisis de muestras**

A partir de las diluciones de las muestras fortificadas, se realizó la curva de calibración del método microbiológico, la cual se obtuvo una vez que las diluciones fueron inoculadas en pozos realizados en una charola con un cultivo de la cepa ATCC de *Escherichia coli*, la cual fue incubada a 37°C por 24 horas. Posterior a la incubación, se midieron los halos de inhibición, y a continuación se obtuvieron los valores en milímetros y en µg/mL. Dichos valores fueron graficados para obtener

la curva de recuperación; una vez obtenida dicha curva, se realizó la evaluación de las muestras biológicas, de las cuales se obtuvo en promedio 100  $\mu\text{L}$ , las cuales fueron depositados en los pozos realizados en la charola que contenía la siembra de la cepa ATCC de *Escherichia coli*. Posterior a su incubación a 37°C, se obtuvo la medición de los halos, y con ayuda de la curva de regresión se pudieron obtener las concentraciones en  $\mu\text{g/mL}$  correspondientes a cada muestra.

Se realizó considerando la metodología estadística descrita por Rani y Pargal (2004)<sup>30</sup> mediante modelos de farmacocinética compartamental con el programa PKAnalyst® de Micromath. Los siguientes datos farmacocinéticos se evaluaron mediante una prueba de ANOVA y Kruskal-Wallis:

- $C_{\text{max}}$ = Concentración plasmática máxima
- $T_{\text{max}}$ = Tiempo para  $C_{\text{max}}$ .
- AUC= Área bajo la curva de concentración plasmática vs. tiempo.
- AUMC= Área bajo la curva momento de concentración plasmática contra tiempo.
- $T_{1/2\beta}$ = Vida media de eliminación.

## RESULTADOS

En el Cuadro 4 y 5 se muestran las concentraciones plasmáticas contra tiempo de enrofloxacin (µg/mL), así como su respectivo promedio y ±DE obtenidas al dosificar a razón de 7.5 mg/kg de peso corporal por vía IM. En el grupo 1 T1 fue administrado el Producto original o de referencia (Baytril Max®) y el grupo 2 T2 fue administrado el Prototipo “A” (genérico).

Con base a los resultados antes mencionados, en la Figura 2 y 3, se representan los perfiles de enrofloxacin, mostrando la distribución obtenida de las concentraciones plasmáticas contra tiempo de los dos grupos evaluados (Producto original y Prototipo “A”).

En la Figura 4, se muestran la comparación realizada entre los perfiles de enrofloxacin obtenidos a partir de los promedios ±1DE de las concentraciones plasmáticas contra tiempo. En la Figura 5 se observan los parámetros farmacocinéticos de ambos productos haciendo énfasis en el término de la actividad terapéutica para ambos productos.

En el Cuadro 6, se encuentran representadas las variables farmacocinéticas y de relevancia durante el estudio:  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ , AUC, AUMC y  $T_{1/2}$  β, comparando los valores del Producto original y Prototipo “A”. Por último, en el Cuadro 7 se muestra la comparación de las variables farmacocinéticas antes mencionadas del Prototipo “A” contra el rango establecido de bioequivalencia (BE) para enrofloxacin.

## DISCUSIÓN

En el presente estudio, los resultados obtenidos muestran que la  $C_{max}$  para el Prototipo "A" fue de  $2.9 \pm 0.4 \mu\text{g/mL}$  con una  $T_{max}$  de  $4.1 \pm 0.06 \text{ h}$  (4 horas), AUC de  $85.6 \pm 1.0 \mu\text{g/mL/h}$  y una  $T_{1/2 \beta}$  de  $0.036 \pm 0.004 \text{ h}$ , mientras que el Producto Original obtuvo una  $C_{max}$  de  $2.2 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$ ,  $T_{max}$  de  $2.08 \pm 0.05 \text{ h}$  (2 horas), AUC de  $13.6 \pm 0.7 \mu\text{g/mL/h}$  y  $T_{1/2 \beta}$  de  $0.027 \pm 0.002$ . Como se observa existen diferencias significativas entre ambos productos ( $P \geq 0.05$ ), evidenciando que el Prototipo "A" es superior al Producto Original.

En un estudio realizado por Ahmed y col. (2005)<sup>33</sup> administrando enrofloxacin por vía IM a dosis de 5 mg/ kg de peso en becerros cebú, se obtuvo que la  $C_{max}$ , era de  $2.701 \pm 0.092 \mu\text{g/mL}$ , la cual es similar a la reportada en el presente estudio para el producto genérico ( $2.9 \pm 0.4 \mu\text{g/mL}$ ).

En relación a la  $T_{max}$ , Araneda y col. (2013)<sup>34</sup> reportaron valores de  $3.500 \pm 1.581 \text{ h}$  al administrar una dosis de 7.5 mg/kg de enrofloxacin en cerdos. Sin embargo en el presente estudio, se obtuvo un valor de  $T_{max}$  de  $4.1 \pm 0.06 \text{ h}$ , lo que nos indica que su absorción se llevó a cabo de manera más lenta.

En cuanto a los valores de AUC, Lalmuanthanga y col (2005)<sup>35</sup> aplicando enrofloxacin de larga acción a dosis de 15 mg/Kg por vía IM en becerros, el valor era de  $107.13 \pm 8.24 \mu\text{g/mL/h}$ , mientras que al aplicar enrofloxacin convencional

el valor de AUC fue de  $96.40 \pm 9.62 \mu\text{g/mL/h}$ . Por lo que al comparar los resultados referidos contra los obtenidos por el Prototipo "A" ( $85.6 \pm 1.0$ ) se observan variaciones en los valores de AUC.

Es de suma importancia recordar que la eficacia de la enrofloxacin est considerada para lograr un valor de  $C_{\text{max}}$  elevado, esto es de 10 a 12 veces por encima de la Concentraci3n M3nima Inhibitoria o CMI (valor de  $C_{\text{max}}$  mayor al valor de la CMI x 12), obteniendo con ello un efecto bactericida y terap3utico 3ptimo. Adem3s, se sabe que hay una gran contribuci3n a la eficacia cl3nica cuando AUC/CMI es mayor a 125 para Gram negativos y 30-50 para Gram positivos. Para el caso de la enrofloxacin gen3rica, se cubre este 3ltimo requisito, si se considera una CMI de  $0.5\mu\text{g/mL}$  para *Escherichia coli*, siendo  $85.6/0.5 = 171.2$

Por otro lado, los valores obtenidos para  $T_{1/2\beta}$  del Prototipo "A" fueron de  $0.036 \pm 0.004$  h, que es un valor superior al del Producto Original  $0.027 \pm 0.002$  h. En el estudio realizado por Khargharia y col (2005)<sup>36</sup> administraron enrofloxacin a 5 mg/Kg por v3a IM en Yak se encontr3 que la  $T_{1/2\beta}$  fue de  $2.786 \pm 0.6006$ . En nuestro estudio, el resultado obtenido por el Prototipo "A", implica que su permanencia en el organismo a concentraciones terap3uticas es mayor a la del producto original, y por lo tanto, permite un mayor tiempo de redosificaci3n.

A partir de los resultados en las variables farmacocin3ticas (Cuadro 6), se realiz3 un comparativo de los rangos de bioequivalencia para el Prototipo "A" (Cuadro 7), donde los valores promedio son superiores a los rangos establecidos por la Federal And Drug Administration (FDA) y la Uni3n Europea.

Es importante considerar que a nivel internacional existen varios criterios de bioequivalencia, las recomendaciones de la FDA y de la Unión Europea para considerar dos preparados como bioequivalentes (Cuadro 8), suponen el establecimiento previo de una diferencia entre ambos preparados, en términos de AUC,  $C_{max}$  y  $T_{max}$ , que pueda asumirse como terapéuticamente relevante.<sup>37</sup>

La FDA recomienda que, salvo en casos específicos, se establezca como criterio de bioequivalencia que los intervalos de confianza estándar de la formulación a evaluar con respecto al original se encuentren dentro del 20% (80-120% para los datos no transformados y 80-125% para los datos con transformación logarítmica), pudiéndose ampliar este intervalo por causas estadísticas (notable asimetría de los valores promedio de los parámetros) o clínicas (gran variabilidad interindividual o amplio margen terapéutico). En los casos de fármacos con gran variabilidad se acepta ampliar intervalos de confianza de  $C_{max}$  a 70%-143%. Con respecto a los resultados de  $T_{max}$ , se puede decir que son menos relevantes que los valores de AUC y  $C_{max}$  a la hora de concluir si existe o no bioequivalencia, ya que mientras que para algunos fármacos con los que se busca una acción rápida este parámetro sí tiene especial importancia, para otros su interés es relativo.<sup>37,38,39</sup>

La FDA asigna límites de confiabilidad del 90% en bioequivalencia cuando los valores para el AUC y  $C_{max}$  con respecto al producto de referencia se encuentra en un 80 a 125%, con lo cual acepta una variación del 20 % en límite inferior y 25% en límite superior.<sup>37,38,39</sup>

## CONCLUSIONES

1. Los datos de farmacocinética indican que el Prototipo “A” (ENROFLOXACINA GENERICO) es **no bioequivalente** a BAYTRIL Max®.
2. Los datos de farmacocinética indican que el Prototipo “A” (ENROFLOXACINA GENERICO) es **superior a BAYTRILMax® en las variables de C<sub>max</sub> y AUC.**
3. El hecho de que **no sea bioequivalente**, no significa que sea un producto **no funcional clínicamente**, todo lo contrario ya que logra cubrir los requisitos PK/PD para la enrofloxacin, lo cual la convierte en un producto original. Siendo uno de los antimicrobianos más potentes de uso exclusivo para medicina veterinaria, consideramos que este preparado es único puede convertirse en una importante opción terapéutica en la clínica bovina.

## REFERENCIAS

1. Salazár MM, Sumano LH, Gracia MI. Bioequivalencia en cuatro marcas de oxitetraciclinas. Vet. Méx. 1995; 26(3):183-187.
2. Sumano LHS, Gutiérrez OL. Farmacología clínica en aves comerciales. 4ta. Edición. México: McGraw-Hill Interamericana. 2010.
3. Qayyum A. Bioequivalence studies. En: Noreddin A, editor. Readings in Advanced Pharmacokinetics: Theory, Methods and Applications. Croacia: InTech, 2012:3-16.
4. Sumano LH, Ocampo CL. Bioequivalencia de dos marcas de enrofloxacin con respecto a Baytril Inyectable en cerdos. Bayvet, Bayer...ayer, hoy y mañana: La realidad en veterinaria. 2002; 6 (3): 11-14.
5. Ponce DLF, Jaramillo AAM. Estudio de bioequivalencia *in vitro* de cuatro productos de amoxicilina en el mercado colombiano. Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas.2004; 33 (1): 70-76.
6. Estévez CFE. Estudios de bioequivalencia: enfoque metodológico y aplicaciones prácticas en la evaluación de medicamentos genéricos. Revista Medica Uruguay. 2000; 16: 2000: 133-143.
7. Guía técnica para realizar bioequivalencias o intercambiabilidad de preparados en medicina veterinaria.
8. Ley Federal de Sanidad Animal, Ley Pub. (07 de junio de 2012)
9. Reglamento de la ley federal de sanidad animal. Ley Púb. (21 de mayo De 2013)
10. Toutain PL, Koritz GD. Veterinary drug bioequivalence determination. J.vet. Pharmacol. Therap. 1997; 20: 79-90.
11. Iragüen CD, Acuña BM, Toro CR, Telting CL, Rubilar BF. Bioequivalencia e intercambiabilidad de medicamentos de uso veterinario. Av. Cs. Vet. 2008; 23 (1,2): 35-42.
12. Sáenz CD. Principios de farmacología general y administración de fármacos. Editorial de la Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 1993; 17-18.

13. Sumano LHS, Ocampo CL. Farmacología veterinaria. 3era. edición. México: McGraw-Hill Interamericana. 2006
14. Takayama S, Hirohashi M, Kato M, Shimada H. Toxicity of quinolone antimicrobial agents. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 1995; 45: 1-45.
15. Schlüter G. Ciprofloxacin: review of potential toxicologic effects. *American Journal of Medicine*. 1987; 82: 91-93.
16. Yoshida K, Yabe K, Nishida S, Yamamoto N, Ohshima C, Sekiguchi M, Yamada K, Furuhashi K. Pharmacokinetic disposition and arthropathic potential of oral ofloxacin in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 1998; 21: 128-132.
17. Sumano LH. [Problemática del uso de enrofloxacin en la avicultura en México](#). *Vet. Méx.* 2000; 2: 1-11.
18. Sumano LH, Gutiérrez OL. Farmacología clínica en bovinos de la enrofloxacin recristalizada (enro- C) – Una nueva fluoroquinolona. *Memorias del Curso Internacional de Farmacología Aplicada en Bovinos*; 2013 septiembre 12-13; San Andrés Cholula (Puebla) México. México (Puebla): Colegio de Profesionistas de Médicos Veterinarios del Estado de Puebla, A.C. 2013: 45-51.
19. Mitchell AM. Enrofloxacin. *Journal of Exotic Pet Medicine*. 2006; 15 (1): 66-69.
20. Yilmaz I, Elmas M. The bioequivalence determination of two different formulations of enrofloxacin in heifers following intramuscular administration. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2010; 16(3): 377-382.
21. García OH, Errecalde C, Prieto G, Lüders C, Puelles I. Farmacocinética de enrofloxacin en terneros. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 1996; 28 (1): 107-111.
22. Lorenzutti M, Martínez EV, Aguilar S. Determinación mediante HPLC/UV de los niveles séricos de enrofloxacin, ciprofloxacin y marbofloxacin, tras administración intravenosa en llamas. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 2007; 1 (2): 475-481.

24. Sumano LH, Ocampo CL, Gutiérrez OL. Non- bioequivalence of various trademarks of enrofloxacin and Baytril ® in cows. [Deutsche Tierärztliche Wochenschrift](#). 2001; 108 (7): 311-314.
25. Medina AAP. Bioexenciones y estudios de bioequivalencia *In Vitro*. Magazine: Revista electrónica del Centro de la Ciencia y la Investigación Farmacéutica. CECIF. División de productos farmacéuticos. 2009; 5: 9-15
26. Sumano LH, Gutiérrez OL. Impacto en la clínica de las bioequivalencias, el diseño farmacéutico y las buenas prácticas de manufactura. Memorias del Curso Internacional de Farmacología Aplicada en Bovinos; 2013 septiembre 12-13; San Andrés Cholula (Puebla) México. México (Puebla): Colegio de Profesionistas de Médicos Veterinarios del Estado de Puebla, A.C. 2013: 5-18.
27. Sumano LH, Gracia MI, Romero V, Ruiz-Ramírez L. The use of ciprofloxacin in proprietary products of enrofloxacin. 1994; 36 (5):476-477.
28. Sumano LH, Ocampo CL. Compositional analysis surveillance of eleven brands of enrofloxacin including Baytril® for veterinary use. *Journal of Veterinary Medicine – Series A*. 1995; 42 (10): 669-673.
29. Bennet JB, Brodie JL, Benner EJ, Kirby WM. Simplified accurate method for antibiotic assay. *Clinical specimens. A. Soc. Microbiology*. 1966; 14: 170-177.
30. Küng k, Riond JL, Wolfram S, Wanner M. Comparison of an HPLC and bioassay method to determine antimicrobial concentrations after intravenous and oral administration of enrofloxacin in four dogs. *Res Vet Sci*. 1993; 54:247–248.
31. Vancutsem PM, Babish JG, Schwark WS. The fluoroquinolone antimicrobials: Structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *Cornell Vet*. 1990; 80: 173-186.
32. Rani S, Pargal A. Bioequivalence: an overview of statistical concepts. *Indian J Pharmacol*. 2004; 36 (4): 209-216.
33. Ahmed FA, Mohan P, Barua CC, Dutta DJ. Pharmacokinetics of enrofloxacin in calves. *Indian Vet J*. 2005; 82: 1261-1263.

34. Araneda C, Villar P, Cuadros C, Del Valle M, Nunes P, Santelices M. Single and multiple pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in pigs. *J Bioequiv Availab*. 2013; 5 (1): 041-046.
35. Lalmuanthanga C, Deore MD, Gatne MM, Khobragade SB. Pharmacokinetics studies on long acting and conventional enrofloxacin in cow calves. *Indian Vet J*. 2005; 82: 943-946.
36. Khargharia S, Choudhury BC, Mohan P, Bhattacharya M. Pharmacokinetic studies of enrofloxacin in Yak after intramuscular administration. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*. 2005; 4 (2): 91-94.
37. Sancho AR, Sánchez L, Dorantes A, Suárez S, Kieffer L. Guía para la industria: Procedimientos estadísticos para estudios de bioequivalencia usando un diseño estándar cruzado de dos tratamientos. U.S. Food And Drug Administration.
38. Novoa HG. Determinación de la bioequivalencia de dos medicamentos orales de omeprazol en voluntarios sanos. (Tesis de Maestría). Escuela Superior de Medicina- IPN , 2007.
39. Contreras BMA. Estudio para la determinar la bioequivalencia de la ciclosporina oral en cápsulas de 100 mg en voluntarios sanos. (Tesis de Maestría). Escuela Superior de Medicina- IPN, 2008.

## **ANEXO I**

### **Procedimiento analítico**

- **Material**

A continuación se listan los reactivos y equipo utilizados.

- **Reactivos:**

1. Hidroxido de potasio
2. Agua desionizada
3. Agar Muller Hinton (BIOXON)

- **Equipo**

- 1) Agitador magnético y agitador ultrasónico
- 2) Balanza analítica ( $\pm 0.0001$  g)
- 3) Baño ultrasónico de agua
- 4) Centrífuga
- 5) Espátulas de metal
- 6) Matraces volumétricos variados
- 7) Pipetas Pasteur de vidrio desechables
- 8) Pipetas volumétricas clase A variadas
- 9) Tubos de 16x100 mm
- 10) Tubos de vidrio graduados variados
- 11) Incubadora
- 12) Espectrofotómetro
- 13) Recipientes pirex de 30 X 30 cm

- **Material biológico**

Cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli*

## ANEXO II

### CUADROS

Cuadro 1

#### GRUPOS DE ESTUDIO Y TRATAMIENTO UTILIZADO EN EL ESTUDIO

Grupo	Tratamiento	Concentración	Dosis (mg/kg)	Vía	Observaciones
<b>Grupo 1</b>	Producto original (T1)	10%	7.5	IM	No más de 15 mL/sitio de aplicación
<b>Grupo 2</b>	Prototipo A (T2)	10%	7.5	IM	No más de 15 mL/sitio de aplicación

**Cuadro 2**

**CONCENTRACIONES DE LA SAL PURA DE ENROFLOXACINA Y LOS HALOS DE INHIBICIÓN  $\pm 1$  DE OBTENIDAS COMO ESTÁNDAR**

Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Área bajo la curva	
	Halo de inhibición	$\pm 1$ DE
40	38.52	0.37
20	31.42	0.31
10	28.55	0.32
5	25.47	0.39
2.5	22.63	0.53
1.25	18.12	0.91
0.625	16.57	0.76
0.3125	10.96	0.88
0.15625	8.56	0.97
0.07813	6.45	0.76
0.039016	ND	-

**ND = No detectable**

**Cuadro 3**

**RECUPERACIONES DE ENROFLOXACINA EN PLASMA DE BOVINOS SIN NINGÚN TRATAMIENTO**

Concentración adicionada ( $\mu\text{g/mL}$ )	Concentración recuperada	Porcentaje de recuperación (%)
20	19.75	98.75
10	9.84	98.40
5	4.92	98.41
2.5	2.46	98.40
1.25	1.22	97.60
0.62	0.61	98.38
0.31	0.304	98.06
0.16	0.157	98.13
0.08	0.078	97.50
0.04	ND	ND

**$X \pm \text{DE}$  de recuperación=  $98.24 \pm 0.42$       ND= no detectable**

**Límite de detección=  $0.078125 \mu\text{g/mL}$**

**Cuadro 4**

**CONCENTRACIONES SÉRICAS DE ENROFLOXACINA ( $\mu\text{G}/\text{ML}$ ) EN LOS ANIMALES MUESTREADOS EN LOS DISTINTOS TIEMPOS DE MUESTREO DOSIFICADOS EN CON PRODUCTO ORIGINAL (BAYTRILMAX®) A RAZÓN DE 7.5 ML/KG IM.**

Tiempo (h)	Animal #/Concentración sérica ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )								Prom	$\pm\text{DE}$
	1	2	3	4	5	6	7	8		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5	0.08	0.08	0.12	0.13	0.18	0.2	0.1	0.11	0.13	0.04
1	0.97	0.65	0.98	1.1	0.76	0.97	0.95	0.97	0.92	0.14
2	2.26	2.35	2.08	1.98	2.23	2.26	2.23	2.37	2.22	0.13
4	0.68	0.71	0.68	0.62	0.32	0.76	0.62	0.64	0.63	0.13
18	0.38	0.52	0.43	0.28	0.47	0.46	0.43	0.44	0.43	0.07
24	0.096	0.06	0.07	0.1	0.13	0.08	0.09	0.07	0.09	0.02
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

**Cuadro 5**

**CONCENTRACIONES SÉRICAS DE ENROFLOXACINA ( $\mu\text{G}/\text{ML}$ ) EN LOS ANIMALES MUESTREADOS EN LOS DISTINTOS TIEMPOS DE MUESTREO DOSIFICADOS CON EL PRODUCTO GENÉRICO A RAZÓN DE 7.5 MG/KG IM.**

Tiempo (h)	Animal #/Concentración sérica ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )								Prom	$\pm\text{DE}$
	1	2	3	4	5	6	7	8		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5	0.18	0.09	0.18	0.17	0.14	0.19	0.16	0.18	0.16	0.03
1	0.28	0.23	0.21	0.31	0.19	0.26	0.25	0.23	0.25	0.04
2	0.44	0.31	0.29	0.38	0.41	0.42	0.38	0.36	0.37	0.05
4	3.1	2.6	3.4	3.6	2.8	2.4	3.1	2.8	2.98	0.40
18	1.4	1.6	1.9	2.1	1.4	1.5	1.7	1.65	1.66	0.24
24	0.9	1.4	1.2	1.9	1.2	1.3	1.4	1.5	1.35	0.29
48	0.3	0.9	0.4	0.8	0.7	0.6	0.62	0.64	0.62	0.20
72	0.1	0.5	0.1	0.4	0.3	0.5	0.33	0.37	0.33	0.16
96	0.07	0.1	0.08	0.07	0.08	0.2	0.2	0.2	0.13	0.06
120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

**Cuadro 6**

**VARIABLES FARMACOCINÉTICAS PARA EL PRODUCTO ORIGINAL Y EL GENÉRICO**

<b>Variable farmacocinética</b>	<b>Original</b>	<b>Genérico</b>
<b>C<sub>max</sub> (µg/mL)</b>	2.2 ± 0.13 <sup>a</sup>	2.9 ± 0.4 <sup>b</sup>
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	2.08 ± 0.05 <sup>a</sup>	4.1 ± 0.06 <sup>b</sup>
<b>AUC (µg/mL/h)</b>	13.6 ± 0.7 <sup>a</sup>	85.6 ± 1.0 <sup>b</sup>
<b>AUMC (µg/mL/h)</b>	1809.1 ± 24.36 <sup>a</sup>	140049.1 ± 123.5 <sup>b</sup>
<b>T<sub>1/2β</sub> (h)</b>	0.027 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.036 ± 0.004 <sup>b</sup>

Diferentes literales significan diferencias estadísticas mediante ANOVA y Kruskal Wallis

**Cuadro 7**

**RANGO DE BIOEQUIVALENCIAS Y BIOEQUIVALENCIA PARA EL PRODUCTO GENÉRICO**

<b>Variable farmacocinética</b>	<b>Rango de BE</b>	<b>Valor promedio del Genérico</b>	<b>Bioequivalencia</b>
<b>C<sub>max</sub> (µg/mL)</b>	1.75 – 2.75	2.9	No
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	1.66 – 2.6	4.1	No
<b>AUC (µg/mL/h)</b>	10.88 – 17.0	85.6	No
<b>AUMC (µg/mL/h)</b>	1447 – 2261.4	140049.1	No
<b>T<sub>1/2β</sub> (h)</b>	0.022 – 0.034	0.036	No

**CUADRO 8. COMPARACIÓN DE ALGUNOS REQUERIMIENTOS DE BIOEQUIVALENCIAS ENTRE ESTADOS UNIDOS DE NORTE AMÉRICA, CANADÁ Y LA COMUNIDAD ECONÓMICA EUROPEA.**

<b>Evaluación</b>	<b>FDA</b>	<b>TPD</b>	<b>EMA</b>
<b>Principales parámetros de evaluación</b>	$C_{MAX}$ , $AUC_0$ , $AUC_{inf}$	$C_{MAX}$ , $AUC_0$	$C_{MAX}$ , $AUC_0$ , $AUC_{inf}$
<b>Intervalo de confianza en <math>C_{MAX}</math></b>	Si, 80 – 125 %	Si, 80 – 125 %	Si, 80 – 120 %
<b>Metabolitos</b>	Como soporte cuando se forma durante/después del el proceso de absorción	No usualmente	Si, cuando el fármaco es un profármaco y el metabolito ayuda a mejorar su eficacia
<b>Estado estable</b>	No	Si, cuando los valores de $AUC_x/AUC_{inf}$ son inferiores al 80%	Si, cuando la formulación es de liberación sostenida o transdermal
<b>Efecto del alimento</b>	Si, siempre y cuando el alimento afecte los niveles	Si, siempre y cuando el alimento afecte los niveles	Si, siempre y cuando el alimento afecte los niveles
<b>Porcentaje mínimo de la AUC observada</b>	Mayor al 88%	Mayor al 80%	Mayor al 80%

FDA = Estados Unidos de Norteamérica. (“Food and drug administration); TPD = Canadá. (“Therapeutic Products Directorate”); EMA = Comunidad Económica Europea (“European Agency for the Evaluation of Medicinal Products “);  $C_{MAX}$  = Máxima concentración obtenida;  $AUC_0$  = Área bajo la curva concentración/tiempo del tiempo 0 a la última concentración detectable;  $AUC_{inf}$  = Área bajo la curva concentración/tiempo extrapolada a infinito.

## Cuadro 9

### **PUNTOS A CONSIDERAR PROPUESTOS POR VARIOS ORGANISMOS INTERNACIONALES PARA LA VALORACIÓN DE LAS BIOEQUIVALENCIAS**

- La dosis a utilizar.
- El diseño de dosis única o dosis múltiple.
- El diseño paralelo o cruzado, repetido o no.
- La formulación de referencia.
- La duración del periodo de lavado.
- El sexo, raza, edad, estado de salud.
- El número de muestras para hacer el perfil.
- Sistemática de tratamiento de los datos farmacocinéticos.
- Forma de estimación de la constante de eliminación.
- Cálculo del área extrapolada.

# ANEXO III

## FIGURAS

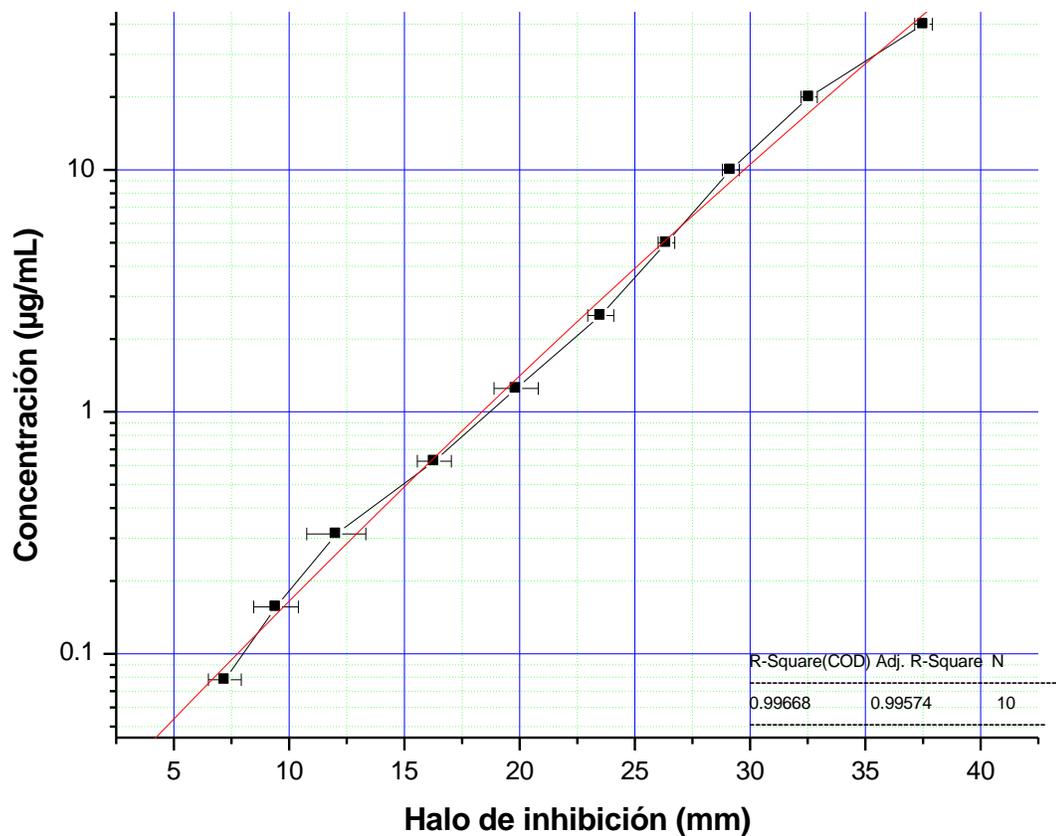
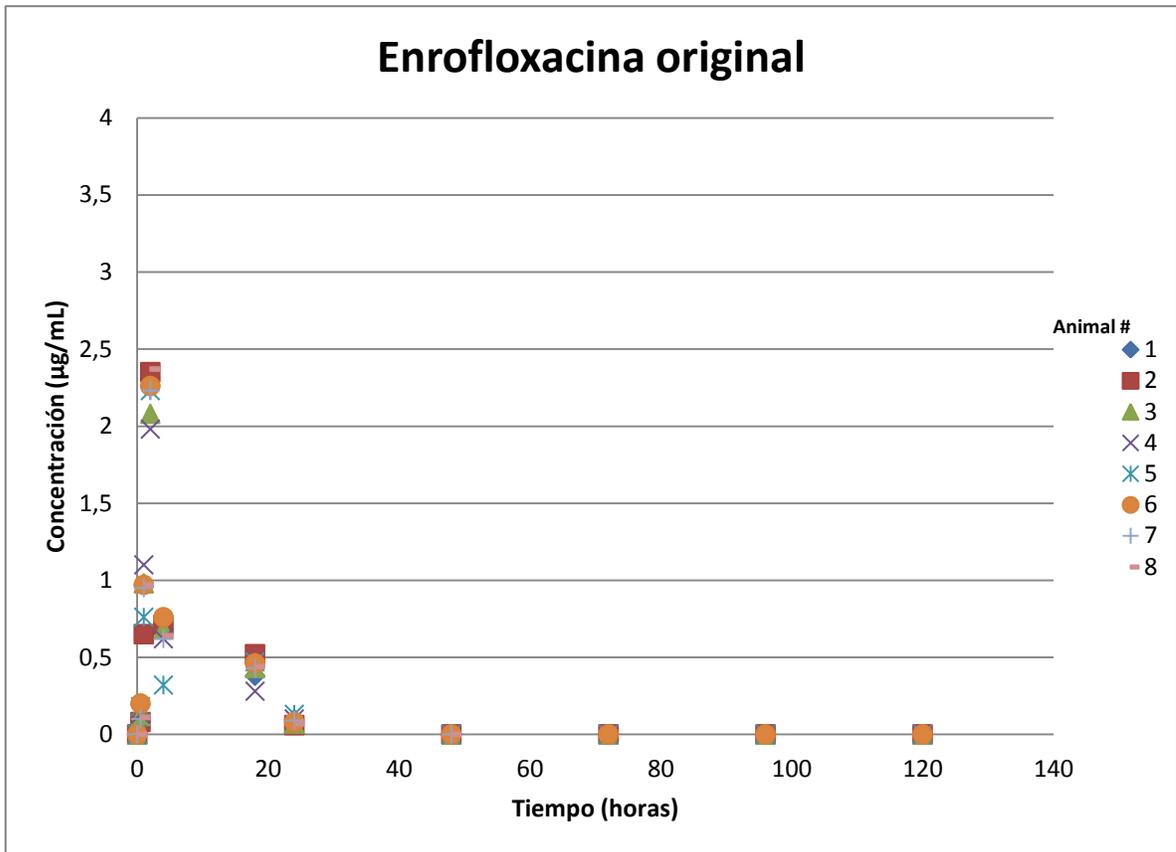


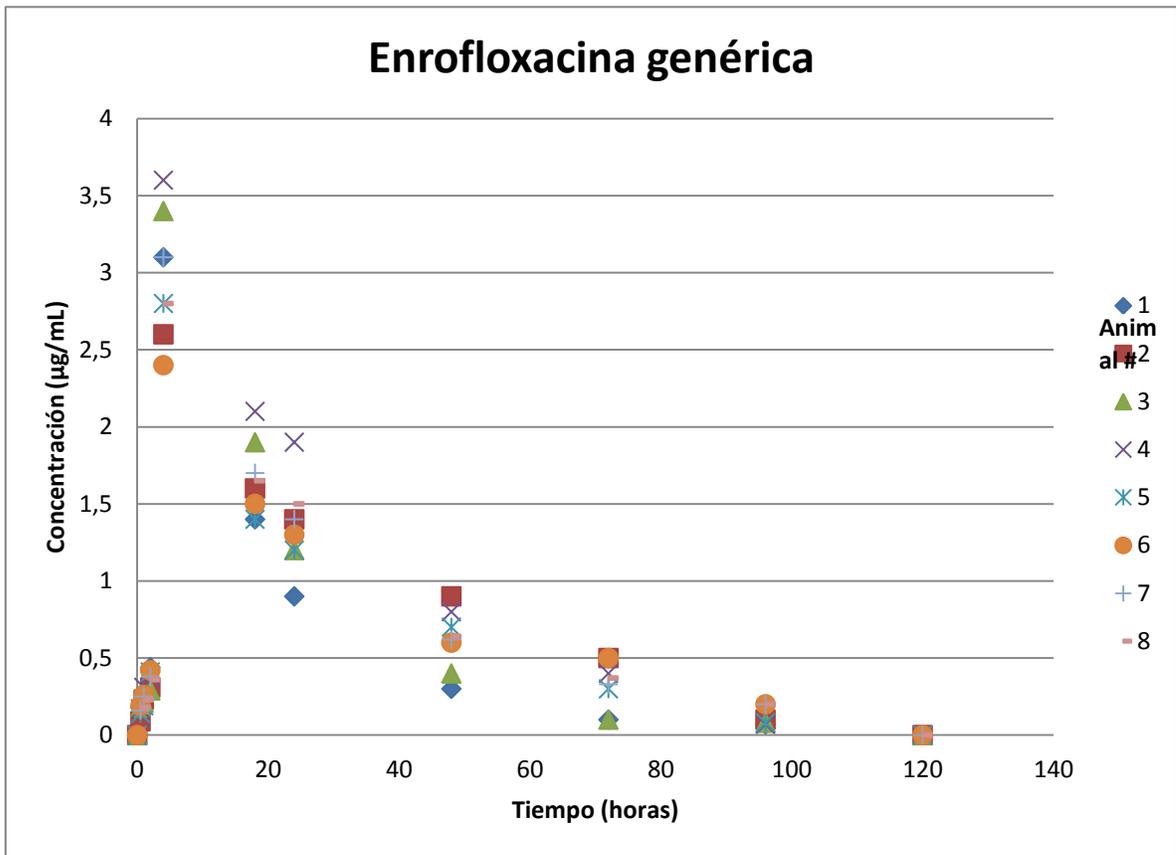
Figura 1

**CURVA ESTÁNDAR  $\pm$  1DE Y REGRESIÓN LINEAL DE LA SAL DE ENROFLOXACINA EN TÉRMINOS DE CONCENTRACIÓN VS HALO DE INHIBICIÓN**



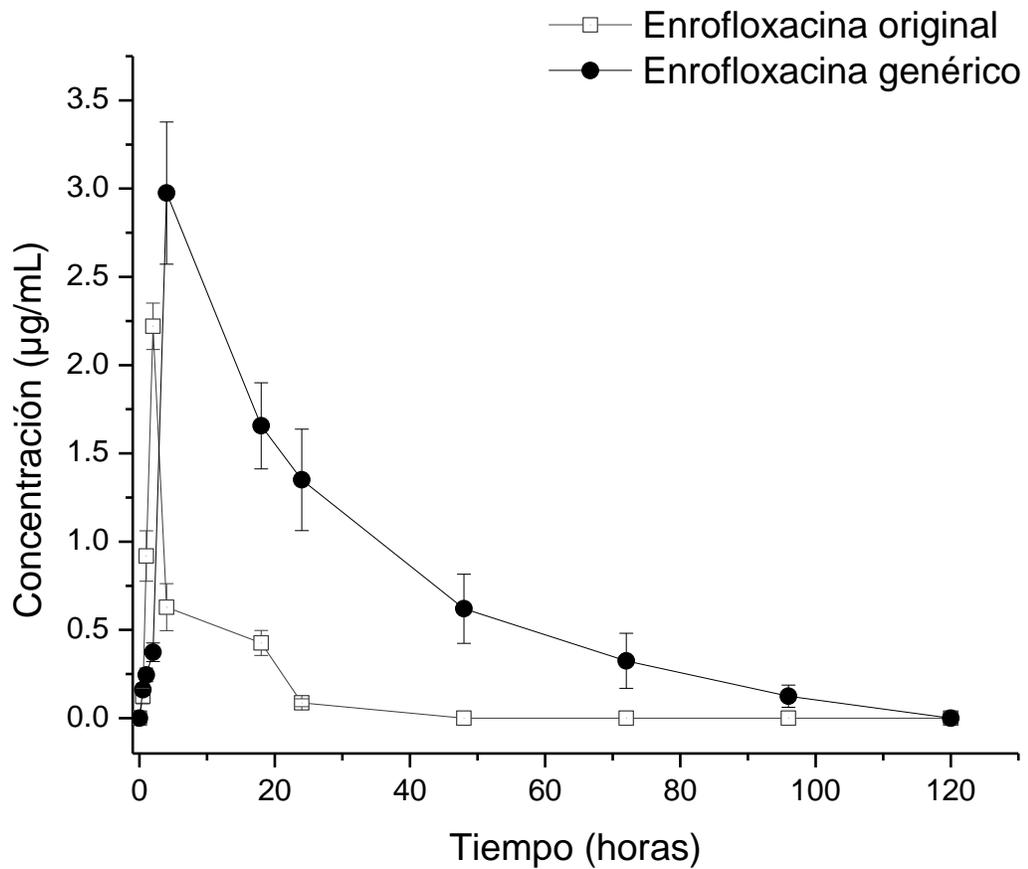
**Figura 2**

**CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS VS TIEMPO DE ENROFLOXACINA ORIGINAL (BAYTRILMAX®) EN EL GRUPO 1 T1 ADMINISTRADA A RAZÓN DE 7.5 mg/mL IM.**



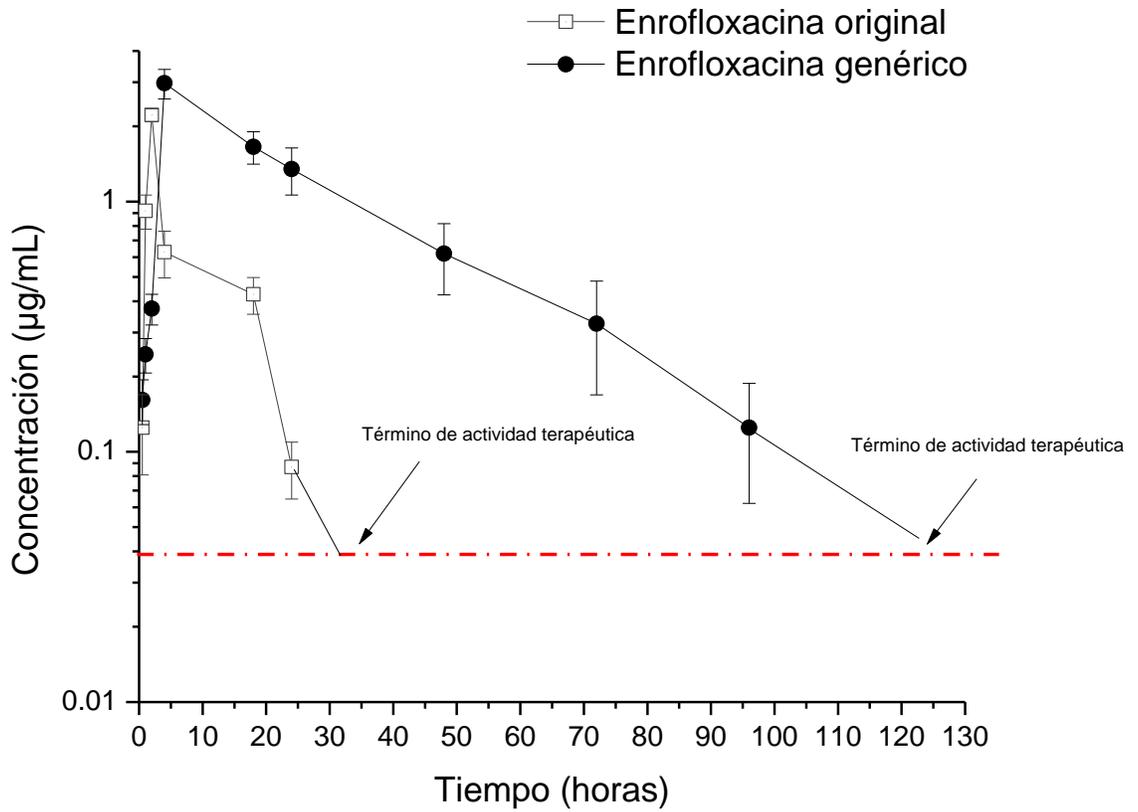
**Figura 3**

**CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS CONTRA TIEMPO DE ENROFLOXACINA GENÉRICA (PROTOTIPO "A") EN EL GRUPO 2 T2 ADMINISTRADA A RAZÓN DE 7.5 mg/mL IM**



**Figura 4**

**PROMEDIO  $\pm$  1 DE DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS CONTRA TIEMPO DE ENROFLOXACINA ORIGINAL Y EL GENÉRICO EVALUADO EN BOVINOS ADMINISTRADA A RAZÓN DE 7.5 mg/mL IM.**



**Figura 5**

**CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS CONTRA TIEMPO DE ENROFLOXACINA ORIGINAL Y EL GENÉRICO EVALUADO EN BOVINOS ADMINISTRADA A RAZÓN DE 7.5 mg/mL IM Y TÉRMINO DE LA ACTIVIDAD TERAPÉUTICA.**

