



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



**“Determinación del tiempo de permanencia en sangre de una solución inyectable de Enrofloxacin en vehículo de larga acción (Enroflox 20 L.A.) luego de una sola aplicación intramuscular en bovinos de engorde”**

**REPORTE DE PRUEBA ANTIBIÓTICA**

**N° de registro del Análisis** : 790-07  
**SOLICITANTE** : AGROVET MARKET S.A.  
**REFERENTE** : Dr. José Tang  
**DIRECCIÓN LEGAL** : Av. Canadá 3798 San Luis. Lima – Perú  
Telf.: 435.2323

**IDENTIFICACION DE PRODUCTO**

**Nombre Comercial** : ENROFLOX 20 L.A.  
**Principio Activo** : Enrofloxacin 20 g/100 mL  
**Presentación** : Frasco Vidrio x 50 mL  
**ENSAYO SOLICITADO** : Determinación del tiempo de permanencia en sangre de bovinos.  
**FECHA DE RECEPCIÓN** : 21 – 05 – 07

---

**RESUMEN**

Se estableció un grupo de 20 bovinos de engorde, entre 200 a 450 kg de peso vivo que recibieron una dosis intramuscular de Enrofloxacin en vehículo de larga acción (**Enroflox 20 L.A.**). El antibiótico fue aplicado en una sola inyección intramuscular en la dosis recomendada por el fabricante del producto, de 1 mL por cada 40 kg de peso vivo (5 mg/kg de p.v.), para determinar el tiempo en días que alcanza manteniendo su efectividad, mediante la evaluación de la concentración antibiótica en el suero con actividad bactericida luego de una sola aplicación intramuscular. Se concluyó que la aplicación de **Enroflox 20 L.A.** en una sola dosis intramuscular de 5 mg/kg de peso vivo, puede alcanzar niveles de concentración en sangre con efectividad inhibitoria de las bacterias sensibles, hasta por 04 días en el 20% de los bovinos y hasta por 03 días en el 100 % de los bovinos tratados.

---



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



## INTRODUCCIÓN

**Enroflox 20 L.A.** es una solución inyectable que contiene enrofloxacin, una quinolona de tercera generación como sustancia activa, en un vehículo de larga acción. La enrofloxacin es un agente antibacteriano arilfluoroquinolónico similar a la ciprofloxacina, que actúa al nivel del núcleo celular inhibiendo la síntesis del DNA (ácido desoxirribonucleico) de las bacterias. Tiene un espectro muy amplio de actividad antimicrobiana, siendo bactericida contra muchos patógenos Gram negativos, gran cantidad de bacterias Gram positivas y Micoplasmas.

La enrofloxacin inhibe al nivel del núcleo celular la síntesis del DNA (ácido desoxirribonucleico) de las bacterias. El DNA tiene una longitud de más de mil micras y está contenido dentro de la bacteria, que generalmente mide entre una a dos micras, lo que indica que el DNA se encuentra condensado fuertemente en un espacio muy pequeño dentro del cromosoma celular. Durante la fase de multiplicación de las bacterias, el DNA se pliega y despliega en forma alternada. Este proceso es esencialmente controlado por la enzima DNA girasa y la enrofloxacin inhibe este sistema enzimático provocando con ello un colapso en el metabolismo bacteriano evitando que la información vital puede ser copiada del DNA bacteriano. La enrofloxacin tiene por lo tanto efecto bactericida.

Las fluorquinolonas en general tienen completa absorción parenteral; semivida de eliminación relativamente larga; gran volumen de distribución (2 a 4 litros/kg y aún más) y excelente penetración tisular (incluyendo fagocitos); eliminándose fundamentalmente por excreción renal y metabolismo hepático. Scheer encontró que la enrofloxacin es fácil y rápidamente absorbida luego de la administración parenteral en terneros, cerdos, perros, gatos, pollos y pavos, alcanzándose concentraciones máximas dentro de las 0.5 a 2 horas. En un ensayo la biodisponibilidad fue del 82% luego de la administración intramuscular, y del 100% luego de la subcutánea.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



En la mayoría de las especies animales el volumen de distribución de las fluorquinolonas es grande, siendo mucho mayor que el alcanzado por los betalactámicos y aminoglucósidos. Se alcanzan altas concentraciones en saliva y secreción nasal; en mucosa, epitelio y secreción bronquial, así como en el hígado y en el tracto urinario. Penetran bien en el tejido pulmonar, fluido de revestimiento y macrófagos alveolares, resultando en concentraciones mayores a las séricas. Varias quinolonas (incluyendo a la enrofloxacin) llegan con rapidez a la glándula mamaria.

Las fluorquinolonas son eliminadas del organismo principalmente por metabolismo hepático y excreción renal. Por lo general son parcialmente metabolizadas en el hígado, y excretadas en bilis y orina a altas concentraciones de droga activa (droga inalterada o metabolito activo). Las rutas metabólicas comunes de estos agentes son la dealquilación, glucoronización, oxidación, sulfoxidación, acetilación y ruptura del anillo piperazínico. En animales la excreción renal es variable, aunque ocurre filtración glomerular para la fracción no ligada, y también secreción tubular activa. La filtración glomerular y la secreción tubular permiten alcanzar altas concentraciones urinarias.

El porcentaje de eliminación a través de la bilis varía entre las especies. La eliminación transepitelial a través de la pared gastrointestinal genera altas concentraciones en sitios de colonización de bacterias patógenas, e indudablemente contribuye a la alta eficacia de estos antimicrobianos en las enteritis bacterianas.

La enrofloxacin está indicada para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por bacterias Gram positivas, Gram negativas y Micoplasmas tales como la Colibacilosis, Salmonelosis, Neumonía, Bronconeumonía (ERB), Diarreas, Mastitis, Pasteurelosis, Dermatitis y Micoplasmosis en bovinos, ovinos, porcinos, camélidos sudamericanos, caprinos, caninos, felinos, aves y conejos. En bovinos está aprobada para el tratamiento de ERB asociada con *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica* y *Haemophilus sommus*. La dosis recomendada es de 2.5 a 5 mg/kg de peso vivo, vía intramuscular, lo que en la práctica equivale a 1 mL de **Enroflox 20 L.A.** por cada 40 – 80 kilogramos de peso vivo.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



La determinación de la actividad bactericida del suero es uno de los pocos métodos de sensibilidad "*in vitro*" que valora las interrelaciones existentes entre el antimicrobiano, el microorganismo y el paciente. Permite estudiar la actividad bactericida de un agente antimicrobiano en presencia de suero y frente al microorganismo responsable del proceso. Para su determinación puede emplearse una técnica de macrodilución o de microdilución.

Su utilidad más inmediata es la monitorización rápida de la terapia antimicrobiana en las indicaciones generales de las pruebas empleadas para determinar el poder bactericida.

Sus limitaciones derivan tanto de la falta de normalización como de diversos factores biológicos inherentes a la propia técnica, que pueden interferir con los resultados y con su interpretación.

Los factores condicionantes más trascendentes derivan del momento de la toma de la muestra, tamaño del inóculo que es la variable más determinante de los resultados, la fase de crecimiento, la existencia de tolerancia, el medio utilizado para las diluciones, la composición de los tubos que pueden favorecer la adherencia bacteriana, el modo de pasar el antimicrobiano desde el tubo al medio sólido, etc.

Aunque no existen estudios controlados, la interpretación clínica sería que para que un antibiótico sea efectivo, los niveles de éste, en el suero del paciente, deben ser bactericidas para el microorganismo infectante, y esto es, a una dilución no menor de 1:8 (García Rodríguez y col., 2001).



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



## **OBJETIVO**

El presente estudio fue realizado para determinar el tiempo de permanencia en sangre (en días) que alcanza el antibiótico **Enroflox 20 L.A.** (Enrofloxacin de larga acción) manteniendo su efectividad mediante la evaluación de la concentración antibiótica en el suero luego de una sola aplicación intramuscular.

## **EJECUTANTE**

Laboratorio de Patología Clínica – Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

**Materiales:** Se usaron tubos vacutainer para recogida de suero. Para la realización del inóculo y preparación de las diluciones del antibiótico se usó el caldo Mueller-Hinton ajustado en cationes y placas de microtitulación de 96 pocillos de poliestireno en las cuales también se realizó el enfrentamiento. Se usaron micropipetas y puntas estériles, vortex, agitador de placas de microdilución, estufa de incubación de 35 a 37 °C y cabina de esterilidad.

**Animales:** Se trabajó con 20 bovinos estabulados de entre 200 a 450 kg de peso vivo a los cuales se les aplicó una sola inyección intramuscular en la dosis recomendada por el fabricante del producto que es de 1 mL por cada 40 kg de peso vivo (5 mg/ kg de p.v.). Las muestras de sangre se obtuvieron de la siguiente manera: una primera muestra antes de la aplicación del producto en prueba, una segunda muestra a las 02 horas exactas post-aplicación del producto y luego cada 24 horas por 04 días, de las cuales, se recolectó el suero en un lapso de tres horas de tomada la muestra y se conservó congelado a -20°C hasta el día de la prueba.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



### Resumen del método de aplicación de Enroflox 20 L.A. y muestreos realizados

Nº Arete	Primer muestreo (pre-aplicación)	Peso (Kg)	Dosis (mL)	Segundo muestreo (2 hrs después)	Tercer muestreo (22/05)	Cuarto muestreo (23/05)	Quinto muestreo (24/05)	Sexto muestreo (25/05)
409	12.10 pm	250	6.5	14.15 pm	12.00 pm	12.10 pm	12.05 pm	12.00 pm
401	12.20 pm	450	11.5	14.25 pm	12.05 pm	12.15 pm	12.15 pm	12.10 pm
402	12.25 pm	400	10.0	14.28 pm	12.10 pm	12.20 pm	12.20 pm	12.20 pm
407	12.40 pm	200	5.0	14.40 pm	12.12 pm	12.25 pm	12.22 pm	12.22 pm
408	12.45 pm	250	6.5	14.47 pm	12.20 pm	12.30 pm	12.25 pm	12.30 pm
403	12.50 pm	350	9.0	14.52 pm	12.26 pm	12.35 pm	12.30 pm	12.35 pm
404	12.50 pm	300	7.5	14.57 pm	12.30 pm	12.40 pm	12.35 pm	12.40 pm
405	12.55 pm	250	6.5	14.59 pm	12.35 pm	12.45 pm	12.45 pm	12.45 pm
406	12.57 pm	250	6.5	15.00 pm	12.40 pm	12.50 pm	12.50 pm	12.50 pm
410	12.59 pm	250	6.5	15.05 pm	12.50 pm	12.56 pm	12.55 pm	12.55 pm
414	13.00 pm	200	5.0	15.07 pm	12.55 pm	12.58 pm	12.58 pm	13.00 pm
418	13.05 pm	400	10.0	15.09 pm	13.02 pm	13.05 pm	13.05 pm	13.10 pm
413	13.08 pm	350	9.0	15.10 pm	13.05 pm	13.15 pm	13.15 pm	13.15 pm
411	13.10 pm	350	9.0	15.15 pm	13.07 pm	13.17 pm	13.20 pm	13.20 pm
415	13.15 pm	200	5.0	15.20 pm	13.09 pm	13.19 pm	13.25 pm	13.25 pm
420	13.22 pm	450	11.5	15.27 pm	13.13 pm	13.25 pm	13.35 pm	13.30 pm
419	13.25 pm	450	11.5	15.30 pm	13.15 pm	13.30 pm	13.40 pm	13.35 pm
417	13.30 pm	250	6.5	15.35 pm	13.18 pm	13.35 pm	13.45 pm	13.45 pm
412	13.33 pm	200	5.0	15.45 pm	13.20 pm	13.40 pm	13.50 pm	13.50 pm
416	13.35 pm	250	6.5	15.55 pm	13.25 pm	13.45 pm	13.55 pm	13.55 pm

**Metodología:** La técnica de microdilución se desarrolló de acuerdo a lo descrito por Griffin 1992, y por el NCCLS, 1998; empleando placas de microtitulación. Se hacen diluciones progresivas de suero de tal forma que queden por pocillo 100 µl a los que se añade el inóculo.

Preparada una serie de pocillos con 100 µL de caldo Mueller-Hinton, se añaden 100 µL de suero al pocillo 1, se mezcla; luego se pasan 100 µL al pocillo 2 y luego de éste al pocillo 3, se mezcla y se repite la operación con los siguientes pocillos (se usaron un total de 4) y se desechan los 100 µL tomados del último pocillo. De esta forma se logran las diluciones de 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 que son equivalentes aproximados a 30, 15, 7.5, 3.75 µg/mL de plasma respectivamente.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



Se preparan pocillos adicionales con 100  $\mu$ L de caldo Mueller-Hinton para que sirvan de control de crecimiento y de esterilidad.

Se añaden 10  $\mu$ L del inóculo al fondo de cada uno de los pocillos, salvo al de control de esterilidad. El inóculo fue una suspensión del *Staphylococcus aureus* aislado de bovinos y de probada sensibilidad a la enrofloxacina, ajustado al 0,5 de la escala de MacFarland. La incubación se realizó por 24 horas a 35°C. Las microplacas se cubren para evitar la evaporación.

Tras la incubación se determina el poder inhibitorio o bacteriostático del suero, definido como la máxima dilución capaz de inhibir el crecimiento bacteriano y será aquella en la que desaparece la turbidez del crecimiento bacteriano.

El poder bactericida se define como aquella dilución que es capaz de destruir el 99.9% del inóculo inicial. Aunque no existe consenso en la interpretación de los resultados, títulos en el pico (muestras tomadas a los 60 minutos post inyección intramuscular)  $\geq 1:32$  y en el valle (muestras tomadas inmediatamente antes de la administración de la siguiente dosis: en este caso las 5 muestras tomadas post aplicación del producto)  $\geq 1:8$  (equivalente a 7.5  $\mu$ g/mL de plasma) indican un poder bactericida adecuado. Por el contrario títulos  $\leq 1:2$  en ambas tomas sugieren un poder bactericida inadecuado. (García Rodríguez y col., 2001)

## **RESULTADOS**

Los resultados se presentan en los siguientes cuadros:



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



**Cuadro 1.-**

**Diluciones de los sueros que alcanzaron efecto bactericida**

**(dilución  $\geq$  1:8), por cada bovino y en cada muestreo.**

TITULO ALCANZADO POR MUESTREO						
N° Arete	Pre tratamiento	02 hrs Post tratamiento	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
409	No inhibe	1:16	1:16	1:8	1:8	1:2
401	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4
402	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4
407	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4
408	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8
403	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4
404	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4
405	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4
406	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4
410	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8
414	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4
418	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:2
413	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4
411	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8
415	No Inhibe	1:16	1:16	1:8	1:8	1:2
420	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4
419	No Inhibe	1:16	1:16	1:8	1:8	1:2
417	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8
412	No Inhibe	1:16	1:16	1:8	1:8	1:2
416	No Inhibe	1:16	1:16	1:16	1:8	1:2

De acuerdo con lo establecido previamente, se observa en el Cuadro 1, los días que **Enroflox 20 L.A.** alcanzó efecto bactericida; es decir, hasta la dilución de suero  $\geq$  1:8, en cada uno de los animales muestreados. Se comprobó que 04 bovinos (20%) alcanzaron hasta el día 04, la dilución igual a 1:8 y 20 bovinos (100%) alcanzaron hasta el día 03, diluciones  $\geq$  1:8.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



## CONCLUSIÓN

Se puede concluir que la aplicación de **Enroflox 20 L.A.** en una sola dosis intramuscular de 5 mg/kg de peso vivo en bovinos, puede alcanzar niveles de concentración en sangre con efectividad bactericida sobre bacterias sensibles, hasta por 04 días en el 20% de los bovinos y hasta por 03 días en el 100 % de los bovinos tratados.

Lima, 05 de junio de 2007



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



## FUENTES DE INFORMACIÓN

- *García Rodríguez, José A. y col.* 2001. Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos.  
<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap12.htm#B22> obtenida el 20 de Mayo 2005 07:14:06 GMT
- *Griffin J.* 1992. FERUM inhibitory and bactericidal titers. En: Isenberg HD Clinical Microbiology Procedures Handbook. ASM, Washington, Pp. 5.17.1-5.17.19.
- *National Committee for Clinical Laboratory Standards.* 1998. Methodology for the serum bactericidal test. Document M21-A. NCCLS, Wayne PA.

.....

**QF MSc Olga Li Elías**

**Responsable del Laboratorio de  
Patología Clínica – FMV – UNMSM**

.....

**MV Arnaldo Alvarado Sánchez**

**Área de Microbiología Clínica y  
Pruebas Especiales – FMV – UNMSM**



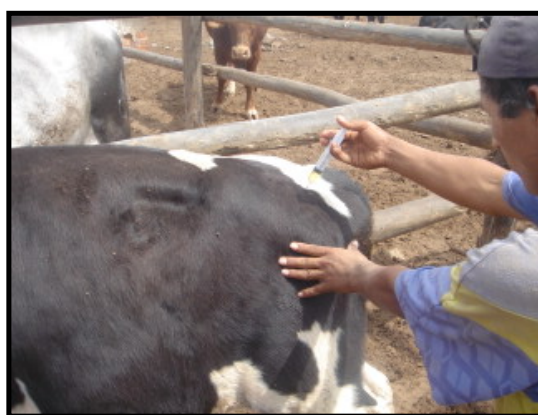
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja  
Telf. 435-3348 – Anexo 237



**FOTOS ANEXAS**



**Foto 01 y 02. Aplicación intramuscular de Enroflox 20 L.A. en bovinos de engorde**



**Foto 03. Toma de muestra de sangre para determinación del tiempo de efectividad**