



UNIVERSIDAD DE MURCIA  
FACULTAD DE VETERINARIA  
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA

---

**ESTUDIO DE FORMULACIONES  
CONVENCIONAL Y NUEVAS  
FORMULACIONES DE LIBERACIÓN  
RETARDADA DE ENROFLOXACINO  
EN LA CABRA**

---

Memoria presentada por  
José Carlos Titos Arcos,  
para optar al grado de Doctor  
en Farmacia

**2010**

# **DEDICATORIA**

A mis padres, Francisco e Isabel, por su confianza y apoyo en mí, así como por inculcarme sus principios y esforzarse en mi educación y bienestar, y estar siempre a mi lado, porque todo lo que soy se lo debo a ellos. Me han dado lo que jamás ellos tuvieron. Ojalá todos los padres fueran como vosotros.

A mis hermanos Encarnación, Francisco Javier y Pedro Ángel, por ser los mejores hermanos que uno puede soñar, por la comprensión, cariño y confianza que siempre me han demostrado. Porque siempre están ahí.

A Elisabeth, Antonio y Sanae, por los ánimos, la espera y el apoyo demostrado durante todos estos años.

A mis sobrinas/os Eugenia Isabel, Alba Cristina, Nerea, Francisco y Jose Luis por hacerme olvidar algunos malos momentos, por vuestra alegría y cariño demostrado.

# **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna manera han contribuido a la realización de esta Tesis, y especialmente:

A los directores de esta tesis:

- Al Dr. Alberto Espuny Miró, por su extraordinaria guía, ideas, colaboración y paciencia, que han permitido realizar este trabajo, dedicándole tiempo y sobre todo ilusión, y aportando además estímulo y apoyo. Es un honor ser un compañero suyo de trabajo y contar con su amistad.
- Al Dr. Carlos Cárceles Rodríguez por su ayuda, consejos y apoyo en todo momento, por su extraordinaria guía y su confianza mostrada. Su ayuda ha sido realmente inestimable.

Al Dr. Emilio Fernández Varón, quien siempre me ha mostrado su interés, su estímulo y ayuda.

A la Dra. Elisa Escudero Pastor y Dr. Pedro Marín Carrillo, por su inestimable colaboración y por el apoyo prestado.

A Verónica, técnico del Departamento de Farmacología, por su ayuda y predisposición a la hora de llevar a cabo las determinaciones analíticas necesarias para el desarrollo de este trabajo.

Al Director de la Granja del IMIDA, Juan Carrizosa Durán y a su equipo de trabajo por poner a nuestra disposición los animales empleados en el presente trabajo.

A todos los alumnos internos de la Unidad Docente de Farmacia, Farmacología y Terapéutica Veterinaria de la Facultad de Veterinaria, David Castro Valle y Omar El Hammoumi por crear un ambiente tan cordial y por su amistad.

A todos los residentes y adjuntos del Hospital General Universitario Morales Meseguer, por el apoyo prestado así como su ánimo, consejos y ayuda, así como por haber compartido conmigo muchos momentos buenos y algunos que no lo fueron tanto, por ser excelentes compañeros de trabajo y sobre todo por su amistad.

A todos los que en algún momento me ayudaron y apoyaron.

A los que olvido para que ellos no me olviden.

A TODOS. Gracias por hacer que sea así.

# ÍNDICE

<b>1.- INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>7</b>
2.1.- Introducción histórica	8
2.2.- Estructura química y clasificación	11
2.2.1.- Estructura química	11
2.2.2.- Clasificación	12
2.3.- Relación estructura y actividad	19
2.4.- Propiedades físicas y químicas	25
2.5.- Mecanismo de acción	28
2.6.- Espectro antibacteriano	34
2.6.1.- Actividad frente a cocos Gram positivos	35
2.6.2.- Actividad frente a Gram negativos	38
2.6.3.- Actividad frente a Gram negativos no fermentadores	39
2.6.4.- Actividad frente a anaerobios	40
2.6.5.- Actividad frente a patógenos atípicos	40
2.7.- Efecto postantibiótico de quinolonas	42
2.8.- Resistencias bacterianas	45
2.8.1.- Alteraciones en las dianas	46
2.8.2.- Alteraciones en la permeabilidad bacteriana	48
2.8.3.- Resistencia por los sistemas de eflujo	49
2.8.4.- Otros mecanismos de resistencia	51
2.9.- Integración farmacocinética-farmacodinámica	52
2.10.- Utilización clínica de las fluorquinolonas	55
2.11.- Toxicidad y efectos adversos	61
2.11.1.- Relación entre estructura y efectos adversos	62

2.11.2.- Efectos específicos según órgano o sistema afectado	64
2.12.- Interacciones	70
2.12.1.- Interacciones con medicamentos	70
2.12.2.- Interacciones con alimentos	75
2.13.- Propiedades farmacocinéticas	75
2.13.1.- Absorción y biodisponibilidad	76
2.13.2.- Distribución	77
2.13.3.- Metabolismo y excreción	79
2.13.4.- Diferencias interespecíficas	81
2.13.5.- Penetración en leche	82
2.14.- Enrofloxacino	84
2.14.1.- Estructura química y relación estructura-actividad	84
2.14.2.- Propiedades físicas y químicas	84
2.14.3.- Espectro antibacteriano	88
2.14.4.- Eficacia de enrofloxacino en diferentes especies	90
2.14.5.- Indicaciones clínicas	93
2.14.5.1.- Indicaciones aprobadas por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. Ficha técnica	93
2.14.5.2.- Indicaciones aprobadas por la Food and Drug Administration (FDA)	94
2.14.5.3.- Posología, forma de administración y duración del tratamiento	95
2.14.5.4.- Contraindicaciones	95
2.14.6.- Toxicidad y efectos adversos	96
2.14.7.- Interacciones con medicamentos	97



2.14.8.- Propiedades farmacocinéticas	98
2.14.8.1.- Absorción y biodisponibilidad	98
2.14.8.2.- Distribución	100
2.14.8.3.- Metabolismo y excreción	101
<b>3.- MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>104</b>
3.1.- Material	105
3.1.1.- Material fungible	105
3.1.2.- Productos y reactivos	105
3.1.3.- Aparataje	106
3.1.4.- Software informático	107
3.2.- Animales	108
3.3.- Protocolo experimental	108
3.4.- Técnicas analíticas	111
3.5.- Validación de la técnica	111
3.6.- Análisis farmacocinético	113
3.6.1.- Análisis compartimental. Plasma	113
3.6.2.- Análisis no compartimental. Plasma	114
3.6.3.- Análisis de datos. Leche	114
3.7.- Métodos estadísticos	115
3.8.- Análisis bacterianos y obtención de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)	116
<b>4.- RESULTADOS</b>	<b>117</b>
4.1.- Administración intravenosa de enrofloxacino	118
4.2.- Administración subcutánea de enrofloxacino	122

4.3.- Administración subcutánea de enrofloxacinó en solución del polímero P407 al 25%	126
4.4.- Administración subcutánea de enrofloxacinó en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	130
4.5.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacinó y su metabolito activo, ciprofloxacino, tras su administración intravenosa, subcutánea, subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	134
4.6.- Excreción a través de la leche de enrofloxacinó y su metabolito activo ciprofloxacino: administración intravenosa de enrofloxacinó	137
4.7.- Excreción a través de la leche de enrofloxacinó y su metabolito activo ciprofloxacino: administración subcutánea de enrofloxacinó	140
4.8.- Excreción a través de la leche de enrofloxacinó y su metabolito activo ciprofloxacino: administración subcutánea de enrofloxacinó en solución del polímero P407 al 25%	143
4.9.- Excreción a través de la leche de enrofloxacinó y su metabolito activo ciprofloxacino: administración subcutánea de enrofloxacinó en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	146
4.10.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacinó y su metabolito activo, ciprofloxacino, de la leche tras la administración de enrofloxacinó vía intravenosa, subcutánea, subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	149
4.11.- Parámetros farmacocinéticos farmacodinámicos obtenidos frente a cepas de <i>Staphylococcus Aureus</i>	152

<b>5.- DISCUSIÓN</b>	<b>154</b>
5.1.- Administración intravenosa de enrofloxacino en cabras	155
5.1.1.- Modelo farmacocinético	155
5.1.2.- Parámetros farmacocinéticos	158
5.1.2.1.- Constantes híbridas de disposición rápida y lenta	158
5.1.2.2.- Microconstantes	159
5.1.2.3.- Tiempos de vida media y tiempo medio de residencia	162
5.1.2.4.- Volúmenes de distribución aparente	164
5.1.2.5.- Área bajo la curva	167
5.1.2.6.- Aclaramiento plasmático	168
5.1.3.- Estudio de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacino, tras la administración intravenosa de enrofloxacino	169
5.1.3.1.- Modelo farmacocinético	169
5.1.3.2.- Parámetros farmacocinéticos	171
5.1.3.2.1.- Tiempo de vida media y MRT	172
5.1.3.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	173
5.1.3.2.3.- Constante de formación y semivida de formación	175
5.1.3.2.4.- Área bajo la curva y ratio de metabolito	176
5.2.- Administración subcutánea de enrofloxacino en cabras	178
5.2.1.- Modelo farmacocinético	178
5.2.2.- Parámetros farmacocinéticos	180
5.2.2.1.- Tiempos de vida media, MRT y MAT	181
5.2.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	183
5.2.2.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	185
5.2.2.4.- Área bajo la curva y biodisponibilidad	185

5.2.3.- Estudio de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacino	187
5.2.3.1.- Modelo farmacocinético	187
5.2.3.2.- Parámetros farmacocinéticos	188
5.2.3.2.1.- Tiempo de vida media y MRT	189
5.2.3.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	190
5.2.3.2.3.- Constante de formación y semivida de formación	191
5.2.3.2.4.- Área bajo la curva y ratio de metabolito	192
5.3.- Administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% en cabras	193
5.3.1.- Modelo farmacocinético	193
5.3.2.- Parámetros farmacocinéticos	194
5.3.2.1.- Tiempos de vida media, MRT y MAT	195
5.3.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	197
5.3.2.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	198
5.3.2.4.- Área bajo la curva y biodisponibilidad	199
5.3.3.- Estudio de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%	200
5.3.3.1.- Modelo farmacocinético	200
5.3.3.2.- Parámetros farmacocinéticos	201
5.3.3.2.1.- Tiempo de vida media y MRT	202
5.3.3.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	203
5.3.3.2.3.- Constante de formación y semivida de formación	204
5.3.3.2.4.- Área bajo la curva y ratio de metabolito	205

5.4.- Administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% en cabras	207
5.4.1.- Modelo farmacocinético	207
5.4.2.- Parámetros farmacocinéticos	208
5.4.2.1.- Tiempos de vida media, MRT y MAT	208
5.4.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	210
5.4.2.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	211
5.4.2.4.- Área bajo la curva y biodisponibilidad	212
5.4.3.- Estudio de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	213
5.4.3.1.- Modelo farmacocinético	213
5.4.3.2.- Parámetros farmacocinéticos	214
5.4.3.2.1.- Tiempo de vida media y MRT	215
5.4.3.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	217
5.4.3.2.3.- Constante de formación y semivida de formación	218
5.4.3.2.4.- Área bajo la curva y ratio de metabolito	219
5.5.- Comparación entre administraciones	221
5.5.1.- Tiempo de vida media ( $t_{1/2\lambda_z}$ )	221
5.5.2.- Tiempo medio de residencia (MRT)	223
5.5.3.- Constante de absorción ( $k_a$ )	224
5.5.4.- Tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y concentración máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ )	225
5.5.5.- Tiempo medio de absorción (MAT)	226
5.5.6.- Área bajo la curva (AUC)	227
5.5.7.- Biodisponibilidad (F)	228

5.6.- Comparación entre administraciones (ciprofloxacino)	230
5.6.1.- Tiempo de vida media ( $t_{1/2\lambda_z}$ )	230
5.6.2.- Tiempo medio de residencia (MRT)	231
5.6.3.- Semivida de formación ( $t_{1/2kf}$ )	232
5.6.4.- Tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y concentración máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ )	234
5.6.5.- Área bajo la curva (AUC)	235
5.7.- Estudio farmacocinético de la excreción en leche de enrofloxacino y su metabolito activo ciprofloxacino	237
5.7.1.- Evolución de las concentraciones de enrofloxacino y ciprofloxacino en leche: administración intravenosa de enrofloxacino	237
5.7.1.1.- Tiempo medio de residencia (MRT)	238
5.7.1.2.- Tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y concentración máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ )	239
5.7.1.3.- Área bajo la curva (AUC) y ratio $AUC_{leche}/AUC_{plasma}$	239
5.7.1.4.- Cantidad total de enrofloxacino y ciprofloxacino eliminada en leche	241
5.7.2.- Evolución de las concentraciones de enrofloxacino y ciprofloxacino en leche: administración subcutánea de enrofloxacino	242
5.7.2.1.- Tiempo medio de residencia (MRT)	242
5.7.2.2.- Tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y concentración máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ )	243
5.7.2.3.- Área bajo la curva (AUC) y ratio $AUC_{leche}/AUC_{plasma}$	244
5.7.2.4.- Ratio $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$	246
5.7.2.5.- Cantidad total de enrofloxacino y ciprofloxacino eliminada en leche	247

5.7.3.- Evolución de las concentraciones de enrofloxacino y ciprofloxacino en leche: administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%	248
5.7.3.1.- Tiempo medio de residencia (MRT)	249
5.7.3.2.- Tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y concentración máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ )	250
5.7.3.3.- Área bajo la curva (AUC) y ratio $AUC_{leche}/AUC_{plasma}$	251
5.7.3.4.- Ratio $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$	252
5.7.3.5.- Cantidad total de enrofloxacino y ciprofloxacino eliminada en leche	253
5.7.4.- Evolución de las concentraciones de enrofloxacino y ciprofloxacino en leche: administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	254
5.7.4.1.- Tiempo medio de residencia (MRT)	255
5.7.4.2.- Tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y concentración máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ )	256
5.7.4.3.- Área bajo la curva (AUC) y ratio $AUC_{leche}/AUC_{plasma}$	257
5.7.4.4.- Ratio $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$	258
5.7.4.5.- Cantidad total de enrofloxacino y ciprofloxacino eliminada en leche	259
5.8.- Comparación entre administración intravenosa, subcutánea y subcutánea de enrofloxacino en: solución del polímero P407 al 25% y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, y de su metabolito, ciprofloxacino	260
5.8.1.- Área bajo la curva (AUC)	260
5.8.2.- Tiempo medio de residencia (MRT)	261
5.8.3.- Tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y concentración máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ )	263
5.9.- Integración farmacocinética/farmacodinámia	265

<b>6.- CONCLUSIONES</b>	<b>269</b>
<b>7.- RESUMEN</b>	<b>274</b>
<b>8.- SUMMARY</b>	<b>277</b>
<b>9.- BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>280</b>
<b>10.- APÉNDICES</b>	<b>322</b>
10.1.- Tablas	323
10.2.- Gráficos	389
10.3.- Abreviaturas	436



# **1.- INTRODUCCIÓN**

El objetivo de la farmacocinética consiste en estudiar la evolución temporal de las concentraciones y cantidades de fármaco y sus metabolitos en fluidos orgánicos, tejidos y excrementos, así como su respuesta farmacológica, y construir modelos adecuados para interpretar los datos obtenidos. Los datos se procesan empleando modelos matemáticos a los que se ajustan las concentraciones, las cantidades de fármaco o sus metabolitos en la totalidad del organismo, o en alguna de sus partes. Las ecuaciones así obtenidas sirven para formular predicciones acerca de los resultados que se obtendrían con tratamientos medicamentosos, ya que la respuesta farmacológica viene determinada por la cantidad de fármaco que accede a los lugares de acción, y este acceso está condicionado por la concentración sanguínea del fármaco.

El comportamiento farmacocinético de un determinado fármaco varía en las diversas especies animales, incluso muy cercanas filogenéticamente (Escudero y cols., 1999), debido a diferencias morfológicas y fisiológicas: aparato digestivo, funcionalidad hepática, funcionalidad renal, ritmo cardíaco, etc. Ello obliga a evitar las extrapolaciones de posologías de una especie a otra, en la medida de lo posible. Por ello es importante estudiar el comportamiento farmacocinético de cada fármaco en las especies en las que se pretende aplicar.

En las especies animales de producción de alimentos, los antibióticos y antiparasitarios son, sin duda, medicamentos usados con mucha frecuencia, casi sistemáticamente. De ello se derivan una serie de circunstancias, entre las que destacan:

- El coste total del tratamiento, que supone un incremento en los gastos de producción. En este sentido, debido a que el rendimiento neto es menor, hemos de procurar que estos gastos sean mínimos, sin que por ello disminuya la eficacia del tratamiento.
- El mantenimiento de unos niveles eficaces de fármaco es fundamental en cualquier tipo de tratamiento, pero con los antibióticos es, además, imprescindible, ya que de no observarse esta condición, se pueden producir resistencias bacterianas, con los inconvenientes que ello conlleva, junto con la menor o nula eficacia del tratamiento y el innecesario incremento de los costes de producción.
- Otro de los aspectos de mayor relevancia, es evitar la presencia de residuos en los productos alimenticios de origen animal destinados al consumo humano.

La importancia del ganado caprino es cada vez mayor debido a diversas causas (Vacas, 2003). Por un lado las razas lecheras dan producciones importantes sin estar sujetas a restricciones por parte de la CEE (cuotas lecheras). Esto hace que incluso ganaderos de bovino, estén introduciendo en sus granjas este ganado. Por otro, su carne no despierta el recelo que despierta la del bovino a causa de la meningitis espongiiforme. Y, por último, el caprino, por su rusticidad hace que puedan aclimatarse y ser explotadas zonas semiáridas o áridas.

Estos animales sufren diversas patologías infecciosas, entre las que se incluyen la agalaxia contagiosa. Esta enfermedad es la más importante desde el punto de vista económico en el caprino y ovino lechero de la cuenca mediterránea. Supone además, el principal problema en los planes de control de mamitis y está causada principalmente por *Mycoplasma agalactiae*, aunque pueden intervenir otros micoplasmas, como *Mycoplasma Mycoides*, *Mycoplasma Capricolum*, y otros gérmenes como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermitis* (Corrales y cols., 1997).

Las fluoroquinolonas son un grupo de antibacterianos sintéticos que despiertan alto interés tanto en medicina humana, como en medicina veterinaria (Ihrke y cols., 1999). Comparados con otros agentes antimicrobianos, las fluoroquinolonas presentan, además de un amplio espectro, una buena absorción tras la administración vía oral, un alto volumen de distribución, penetrando en casi todos los tejidos y células del organismo y un tiempo de vida medio prolongado, permitiendo regímenes de administración de 1-2 veces al día (Walker, 2000; Schentag y Scully, 2000). Son por ello unos agentes valiosos para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias intracelulares (Hooper, 1998). Además, son útiles en el tratamiento de infecciones del aparato respiratorio y tejidos blandos, y quizá en el tratamiento de mamitis.

A las dosis apropiadas, las fluoroquinolonas son bactericidas, presentando un patrón concentración dependiente y un prolongado efecto postantibiótico (Walker, 2000). El conocimiento y monitorización de estos antimicrobianos, especialmente sus características farmacocinéticas y farmacodinámicas frente a patógenos determinados, permite optimizar el régimen de dosificación, para evitar la aparición de mutantes resistentes y conseguir el éxito clínico (Aminimanizani y cols., 2001).

Nuevas fluoroquinolonas han sido introducidas en el campo de la terapéutica en los últimos diez años. Estos nuevos agentes muestran una aumentada actividad frente a

Gram positivos y anaerobios, y retienen la actividad frente a Gram negativos, propia de las quinolonas precedentes (Aminimanizani y cols., 2001).

El enrofloxacino es una fluorquinolona desarrollada exclusivamente para ser usada en medicina veterinaria. Se caracteriza por presentar una buena actividad antimicrobiana, incluso contra microorganismos poco susceptibles a los antimicrobianos de uso corriente en animales (Otero y cols., 2001a).

Por otro lado, la liberación sostenida de fármacos administrados por vía parenteral ha adquirido una importancia creciente en el desarrollo de nuevas formulaciones farmacéuticas. Esto se manifiesta de forma especial en la industria farmacéutica orientada a la Sanidad Animal, implicada en la generación de formulaciones de liberación sostenida para algunos fármacos, tanto para animales de compañía como de producción (Matschke y cols., 2002). Resulta interesante poder administrar el medicamento con amplios intervalos, lo que supone un menor coste y un menor estrés de manejo de los animales (Sun y cols., 2002). Las ventajas potenciales de una absorción sostenida son varias: se utiliza menos cantidad de fármaco, lo que reduce los efectos colaterales y la acumulación en tratamientos prolongados; se mejora la eficiencia del tratamiento, al reducir la fluctuación de las concentraciones estacionarias y al aumentar la biodisponibilidad (Longer y Robinson, 1987). Sorprendentemente, a pesar de todo esto, tan sólo se han descrito unas pocas formulaciones de liberación sostenida, en particular, respecto a antibióticos, para la claritromicina (Gupta y cols., 1993) y ofloxacina (Bahk y cols., 2000).

Cuando el fármaco se administra por vía parenteral, la absorción puede modificarse mediante la formación de complejos dissociables con macromoléculas, un proceso semejante a la unión a proteínas plasmáticas. El complejo fármaco-macromolécula puede servir de reservorio en el sitio de inyección, dando lugar a una liberación sostenida. Como macromoléculas se utilizan polímeros sintéticos como polivinilpirrolidona (PVP), polietilenglicol o metilcelulosa (Sun y cols., 2002). También puede retardarse la absorción mediante la modificación de la viscosidad del medicamento. Así, el P407 (70% polioxietileno + 30% polioxipropileno) es un polímero que presenta una baja toxicidad, buena compatibilidad con muchos fármacos y alta capacidad de solubilización, además ha sido aprobado su uso por la Food and Drug Administration (FDA) en Estados Unidos.

Este producto en solución acuosa entre 20-30% presenta la ventaja de su gelificación termo-reversible desde su forma de baja viscosidad a 4°C hasta forma de semi-gel a la temperatura corporal (37°C). Esta propiedad hace de él un excelente vehículo para la liberación controlada (Narasimhan y Pepas, 1997). La propiedad de ser poco viscoso a temperaturas inferiores a la corporal hace que se evite la aparición de dolor en el punto de inyección. Además, mediante la adición de diferentes coadyuvantes que modifiquen su viscosidad podremos obtener diferentes grados de liberación de los fármacos. Diversas sustancias pueden ser adicionadas al P407 con este fin. Entre ellas se pueden mencionar la polivinilpirrolidona (PVP), la carboximetilcelulosa y la hidroxipropil-metilcelulosa. De ellas, la carboximetilcelulosa resulta ser, frecuentemente, bien tolerada (Zhang y cols., 2002), la cual ha sido elegida para este estudio.

Considerando todo lo expuesto hasta el momento, y dada la importancia de la cabra en la producción animal, nos hemos planteado en la siguiente memoria estudiar la farmacocinética de enrofloxacino en esta especie con el fin de alcanzar los siguientes objetivos:

1. Determinación de los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacino y su metabolito (ciprofloxacino) tras la administración intravenosa y subcutánea, en solución acuosa, en caprino.
2. Determinación de los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacino y su metabolito (ciprofloxacino) tras su administración subcutánea, en solución del polímero P407 al 25% y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, en caprino.
3. La determinación y cuantificación de la eliminación de ambas fluoroquinolonas (enrofloxacino y su metabolito, ciprofloxacino) en la leche, dependiendo de la vía de administración y la formulación, así como sus perfiles cinéticos, como base para determinar su utilidad en mamitis.
4. Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de enrofloxacino y ciprofloxacino frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de cabras procedentes de granjas comerciales, como germen representativo de procesos infecciosos mamarios en la especie a estudiar.

5. Establecimiento de los parámetros farmacocinéticos-farmacodinámicos de enrofloxacino utilizando las CMI calculadas en el objetivo anterior, para la proposición de un régimen posológico que optimice la eficacia de este antibiótico frente a *Staphylococcus aureus*, minimizando el riesgo de aparición de resistencias.

## **2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## 2.1.- INTRODUCCIÓN HISTÓRICA.

Las quinolonas, también conocidas como 4-quinolonas, comprenden un gran grupo de agentes antimicrobianos sintéticos constituyendo un grupo muy heterogéneo de quimioterápicos de síntesis y usados desde hace más de 40 años (Dámaso, 1990).

El origen del grupo de las quinolonas, surgió cuando de manera fortuita se halló la actividad antibacteriana de derivados de la 1,8-naftiridina (Tillotson, 1996) mientras se desarrollaban los agentes antimaláricos, permitiendo la síntesis del ácido nalidíxico (1-etilo-1,4 dihidro-7-metilo-4-oxo-1,8 naftiridina-3-ácido carboxílico) en el año 1962 (Lescher y cols.), cuya actividad era moderada frente a Gram negativos, absorción oral baja y usado en el tratamiento de infecciones urinarias debido a la obtención de elevadas concentraciones en orina (Fernández, 1988). Si bien su uso se vio limitado por sus bajas concentraciones en suero y su alta concentración mínima inhibitoria (MIC 4-16 mg/dL) (Gootz, y cols., 1996).

A partir del ácido nalidíxico, fueron sintetizadas las primeras 4-quinolonas, con estructuras similares: ácido pipemídico (piridopirimidina), el ácido oxolínico, la flumequina y el cinoxacino (cinolona). Estas moléculas fueron usadas también en infecciones urinarias por Gram negativos (Read, y cols., 2000).

El ácido nalidíxico, ácido oxolínico y cinoxacino se caracterizan por (Emmerson y Jones, 2003):

- no presentar casi actividad frente a organismos Gram positivos ni *Pseudomona aeruginosa*.
- toxicidad a nivel del sistema nervioso central y del tracto gastrointestinal.
- rápida aparición de resistencias.

En 1980, la introducción de un átomo de flúor en posición 6 y un anillo piperacínico en posición 7 dio lugar a un aumento de la absorción oral, un aumento de la distribución a tejidos así como de su actividad antimicrobiana, presentando actividad frente organismos como *Pseudomonas aeruginosa* y cocos Gram positivos (Ball, 2000). Es en este momento es cuando aparecen las fluorquinolonas, derivadas de naftiridinas o de quinolinas.

El primer compuesto con un flúor en posición 6 fue la flumequina desarrollada en 1976. Hasta este momento, ninguno de los compuestos anteriores presentaba mejoras frente al ácido nalidíxico. Flumequina dio indicios de tener actividad frente a



Gram positivos (Appelbaum y Hunter, 2000). Es activa frente *Enterobacterias*, incluyendo algunas cepas que eran resistentes al ácido nalidíxico, además de actividad contra la gonorrea no complicada (Emmerson y Jones, 2003).

Posteriormente, en 1978 fue sintetizado norfloxacin, con un flúor en posición 6 y una cadena lateral de piperazina en posición 7, y en los tres años siguientes fueron patentadas algunas fluorquinolonas, que alcanzaron el mercado: pefloxacin (1979), enoxacin (1980), fleroxacin (1981), ciprofloxacino (1981) y ofloxacino (1982). Sus espectros de actividad incluyen a especies Gram positivas y Gram negativas, su absorción en tracto gastrointestinal es buena y sus niveles en sangre son adecuados para usarlas para infecciones sistémicas. Pese a las mejoras introducidas, algunas especies, concretamente *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, mostraron resistencia a este grupo de quimioterápicos (Appelbaum y Hunter, 2000; Emmerson y Jones, 2003).

La primera fluorquinolona aprobada en la práctica clínica fue norfloxacin en la última década de los años 80, seguido de ciprofloxacino (Martínez y cols., 2006). En el caso de los animales, la primera fluorquinolona aprobada para su uso fue enrofloxacin (Baytril®, Mobay) a finales de 1980 (Babish y cols., 1990).

Durante la última década, la investigación con fluoroquinolonas, concretamente en el ámbito de sus propiedades microbiológicas ha tenido como objetivos (Appelbaum y Hunter, 2000):

1. Mejorar su actividad frente al neumococo, incluyendo aquellas cepas resistentes a betalactámicos o a otros antibióticos como los macrólidos.
2. Mejorar la actividad frente a estafilococos, concretamente *Staphylococcus aureus* meticilin resistentes.
3. Mejorar la actividad, en general, contra cocos Gram positivos.
4. Mejorar la actividad frente a anaerobios.
5. Mejorar la actividad frente a cepas resistentes a ciprofloxacino y ofloxacino, incluyendo cepas de estafilococos y enterobacterias.
6. Mantener buena actividad frente a Gram negativos, incluyendo *Pseudomonas spp.* y distintas especies no fermentadoras.
7. Disminuir la velocidad de aparición de resistencias.

Los siguientes compuestos comercializados fueron dirigidos hacia la consecución de estos objetivos. Así, se encuentra a sparfloxacino, levofloxacino y grepafloxacino, que mejoraron el perfil farmacocinético y la actividad frente a anaerobios y Gram positivos (particularmente el neumococo), si bien y aunque posean mayor actividad frente a estafilococos que ciprofloxacino y ofloxacino, ésta aún no resulta la ideal (Appelbaum y Hunter, 2000; Lubasch y cols., 2000).

El grupo de compuestos que muestra de forma más drástica mejoras a este respecto está formado por clinafloxacino, gatifloxacino, gemifloxacino, moxifloxacino, sitafloxacino y trovafloxacino. Estos fármacos comparten con ciprofloxacino su actividad frente a Gram negativos y muestran buena actividad frente a la mayoría de Gram positivos (Appelbaum y Hunter, 2000).

En veterinaria, las fluoroquinolonas también se han desarrollado existiendo exclusivamente para Medicina Veterinaria: amifloxacino, enrofloxacino, difloxacino, danofloxacino, marbofloxacino, sarafloxacino, orbifloxacino e ibafloxacino (Brown, 1996; Martínez y cols., 2006).

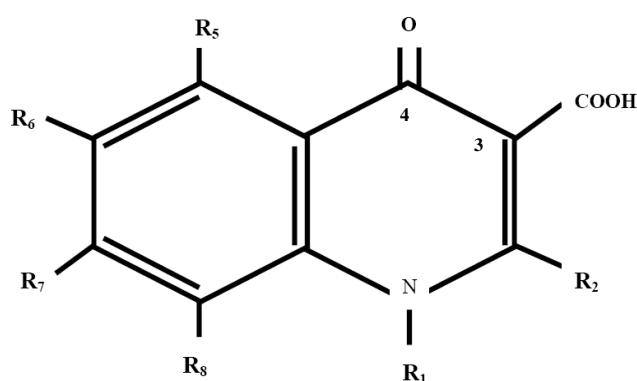
Las fluoroquinolonas se utilizan ampliamente para un importante número de infecciones en caninos, felinos, equinos, bovinos, porcinos y aves, debido a su alta potencia, amplio espectro, actividad bactericida dependiente de la concentración, óptimas características farmacocinéticas y baja toxicidad. Son eficaces para el tratamiento de neumonías en lechones y terneros, otitis en caninos, infecciones urinarias en animales de compañía, infecciones dérmicas en caninos y felinos e infecciones gastrointestinales en porcinos, bovinos y aves (Ihrke y cols., 1999; Lees y Aliabadi, 2002b).

En el desarrollo de este grupo no todo han sido avances, en 1999, trovafloxacino fue retirado del mercado mundial debido a la descripción de varios casos de hepatotoxicidad fulminante, y grepafloxacino se retiró por cardiotoxicidad (Emmerson y Jones, 2003). Enoxacino, pefloxacino y fleroxacino presentan fototoxicidad, temafloxacino se asoció a severos síndromes urémicos-hemolíticos y lomefloxacino causaba fototoxicidad y efectos sobre SNC, y por ello fue retirado del mercado. Sparfloxacino se asociaba a fototoxicidad y prolongación del intervalo QTc. Tosufloxacino causa severa trombocitopenia y nefritis y por último clinafloxacino se asoció a fototoxicidad e hipoglucemia (Rubinstein, 2001; Fish, 2001; Mandell y cols., 2001).

## 2.2.- ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN.

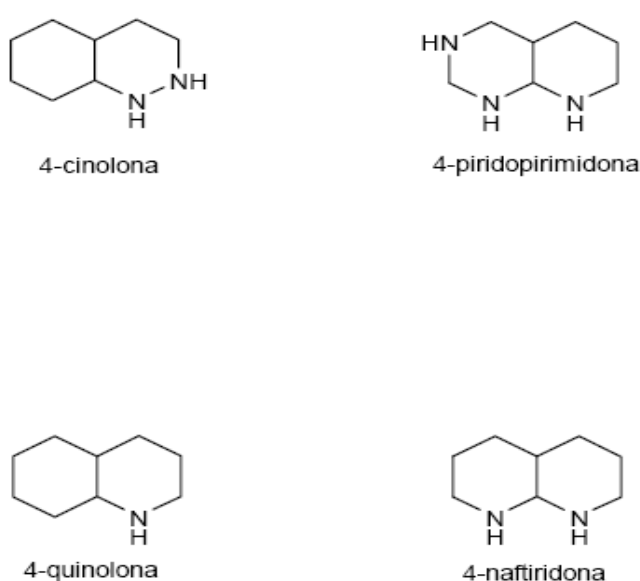
### 2.2.1.- ESTRUCTURA QUÍMICA.

Las quinolonas están formadas por un anillo heteroaromático bicíclico que combina el núcleo  $\beta$  piridona, ácido carboxílico y un anillo aromático (naftiridina, quinolina, cinolina o piridopirimidina) (figura 1):



**Figura 1.-** Estructura básica o núcleo de las quinolonas.

Desde un punto de vista químico, todas las quinolonas se clasifican en cuatro grupos: 4-oxo-naftiridinas o 4-naftiridonas, 4-oxoquinolinas o 4 quinolonas, 4-oxocinolinas o 4-cinolonas, y 4-oxopiridopirimidinas o 4-primidonas. Posteriormente se desarrollaron las 2-piridonas, bioisómeros de las quinolonas, en las cuales el nitrógeno de la posición 1 sustituye el carbono entre la posiciones C4 y C5. Estas estructuras se representan a continuación (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004) (figura 2):



**Figura 2.-** Clasificación química de las quinolonas.

De todas estas, solo las 4-quinolonas y las 4-naftiridonas han sido desarrolladas, ya que la presencia de un nitrógeno en posición 2 (4-cinolonas) o en posición 6 (4-pirimidonas) dan lugar a una reducción notable de la actividad (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

La estructura básica de las quinolonas se ha ido modificando y se han realizado sustituciones en 6 posiciones, salvo la posición 3 (radical carboxilo) y la 4 (radical oxo), dando lugar a un gran desarrollo de antimicrobianos. Estas modificaciones dan lugar a:

- Variaciones de actividad frente a microorganismos.
- Modificaciones en las propiedades farmacocinéticas.
- Cambio en la toxicidad.
- Aparición de nuevas interacciones con otros fármacos.

De esta forma y por su fácil síntesis se han desarrollado una gran cantidad de compuestos. Hasta el día de hoy hay unas 10.0000 moléculas patentadas (Andersson y Macgowan, 2003).

Muchas de las moléculas sintetizadas no se han seguido investigando por problemas de toxicidad o porque sus ventajas no son superiores a las moléculas ya sintetizadas (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

### **2.2.2.- CLASIFICACIÓN.**

Existen diferentes sistemas de clasificación de las quinolonas, el más sencillo de ellos es agruparlas por la fecha de licencia para su uso clínico, otros como los que se detallarán a continuación se basan en la estructura química, aunque quizá el más utilizado se basa en su actividad y farmacocinética.

La clasificación de las quinolonas se establece en distintas generaciones (Azanza y cols., 2003; Gutiérrez-Zufiaurre, 2004):

## **I.- PRIMERA GENERACIÓN:**

### 1.- Derivados de la naftiridina:

#### 1.1.- No fluoradas:

Ácido nalidíxico.

#### 1.2.- Fluoradas:

Enoxacino.

Tosufloxacino.

### 2.- Derivados de la cinolina:

Cinoxacino

### 3.- Derivados de la piridopirimidina:

Ácido piromídico.

Ácido pipemídico o piperámico.

### 4.- Derivados de la quinoleína:

#### 4.1.- Quinolonas no fluoradas:

Ácido oxolínico.

Acroxoxacino (antes rosoxacino).

Droxacino.

Miloxacino.

Tioxacino.

#### 4.2.- Monofluoroquinolonas:

Flumequina.

## **II.- SEGUNDA GENERACIÓN (derivados de la quinoleína)**

### 1.- Monofluoroquinolonas:

Amifloxacino.

Ciprofloxacino.

Iroxacino o pifloxacino.

Levofloxacino

Norfloxacino.

Ofloxacino.

Pefloxacino.

2.- Difluoroquinolonas:

Difloxacino.

Lomefloxacino.

3.- Trifluoroquinolonas: Fleroxacino, Temafloxacino.

**III.- TERCERA GENERACIÓN**

1.- Monofluoroquinolonas (derivados de la quinoleína):

Grepafloxacino.

Gatifloxacino.

2.- Difluoroquinolonas (derivados de la quinoleína):

Sparfloxacino.

3.- Trifluoroquinolonas (derivados de la naftiridina):

Tosufloxacino.

**IV.- CUARTA GENERACIÓN (derivados de la quinoleína)**

1.- Monofluoroquinolonas:

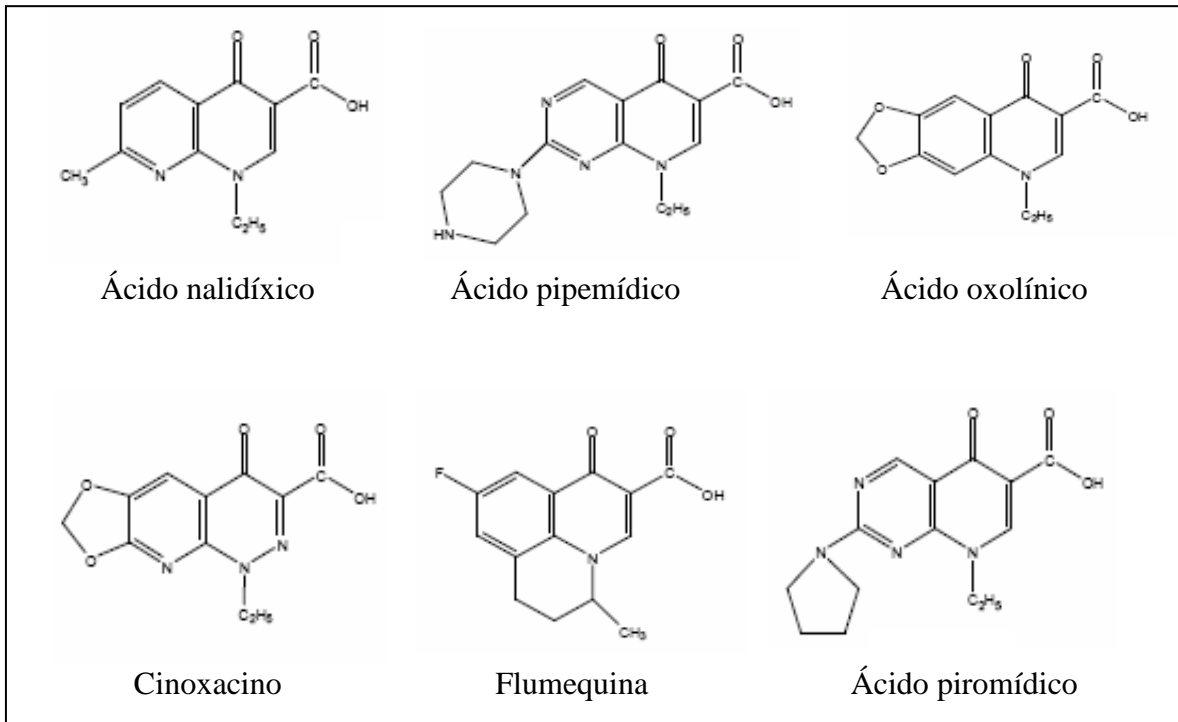
Clinafloxacino.

Moxifloxacino.

Cada grupo o generación de quinolonas presenta una serie de características:

- **Primera generación** (Figura 3): moléculas históricamente más antiguas y que definen los núcleos básicos de estos antimicrobianos. Estructuralmente se caracterizan por la ausencia de un radical 6-fluoro, con excepción de flumequina, y por no exhibir una asociación de 6-fluoro con el grupo piperazina en posición C7 (presente en ácido pipemídico) (Mella y cols., 2000).

Se caracterizan además, por su reducido espectro de actividad y por ser agentes quimioterápicos sólo útiles en infecciones del tracto urinario (Gootz y Brighty, 1998; Andriole, 1998). Útiles frente a ciertas especies de Enterobacterias, y no frente a otras especies como *Pseudomonas*, cocos Gram positivos y anaerobios (King y cols., 2000).

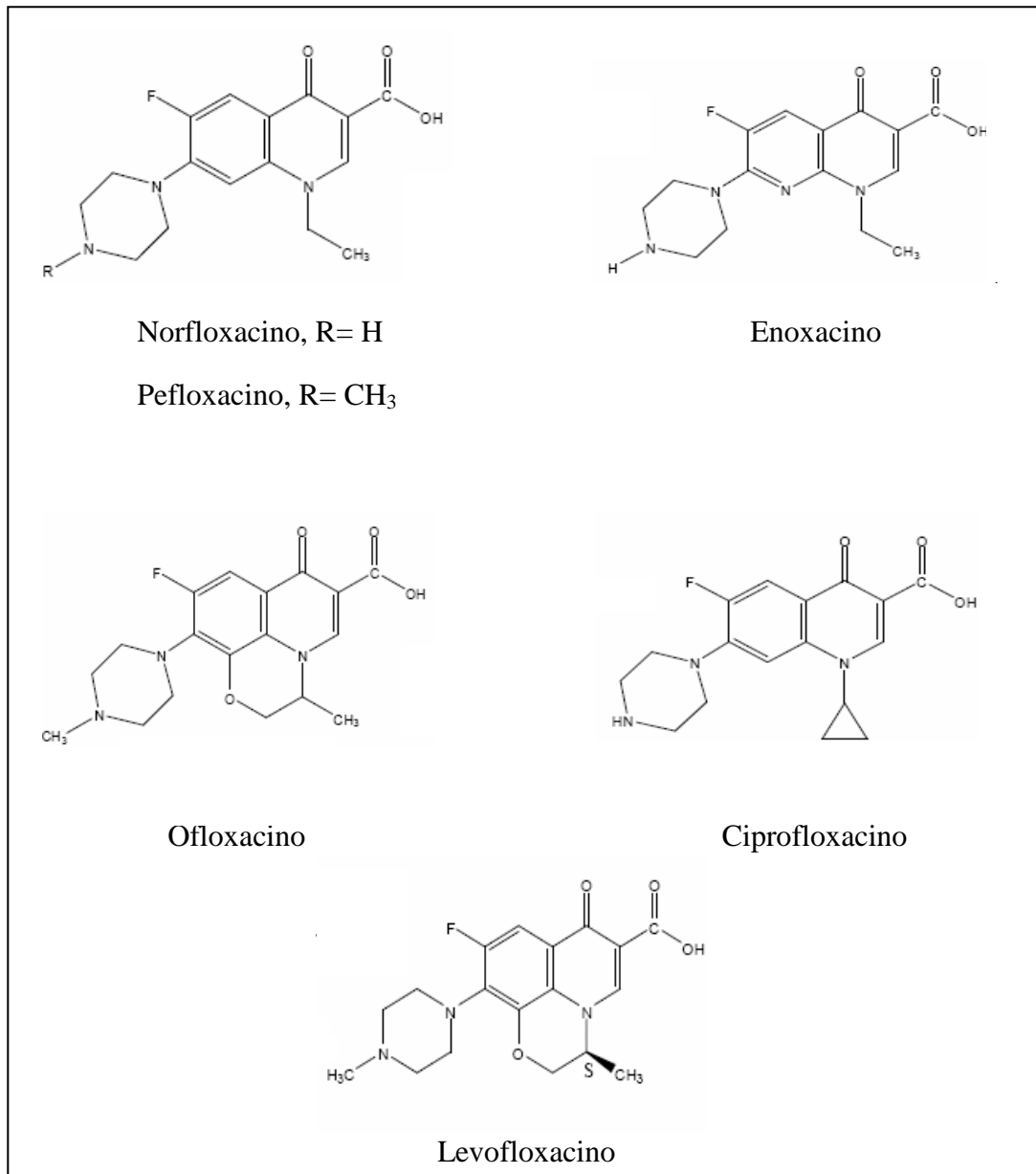


**Figura 3.-** Principales quinolonas de primera generación.

- **Segunda generación** (Figura 4): presentan de manera constante un flúor en la posición 6, el cual permite aumentar tanto la afinidad por sus blancos (topoisomerasas tipo II) como la capacidad de penetración al interior de la célula bacteriana (hasta setenta veces con respecto a las quinolonas que no tienen flúor en esta posición (Sumano, 1993) y un piperazina o metil piperazina (diamida cíclica) en la posición 7 del núcleo quinolónico (Tálens-Visconti y cols., 2002). La molécula estándar de esta generación es norfloxacino.

Clínicamente presentan mayor potencia, amplio espectro antimicrobiano, buenas propiedades farmacocinéticas, menos toxicidad, menos efectos secundarios y menores resistencias bacterianas. Presentan actividad frente *Pseudomonas aeruginosa*, algunas bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* y determinadas especies de micobacterias, clamidias y riquetsias. Su actividad frente a *Acinetobacter* y *Stenotrophomonas maltophilia* es moderada y escasa frente a *Streptococcus pneumoniae* y otras especies de *Streptococcus* (King y cols., 2002, Gootz y Brighty, 1998; Furet y Pechere, 1991). Sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SAMR) rápidamente se estableció resistencia (Schaeffler, 1989).

Son moléculas utilizadas para una serie de infecciones graves que incluyen cuadros osteoarticulares, digestivos, de tejidos blandos, infecciones respiratorias e infecciones de transmisión sexual (Von Rosenstiel y Adam, 1994; Fink y cols., 1994).



**Figura 4.-** Principales quinolonas de segunda generación.

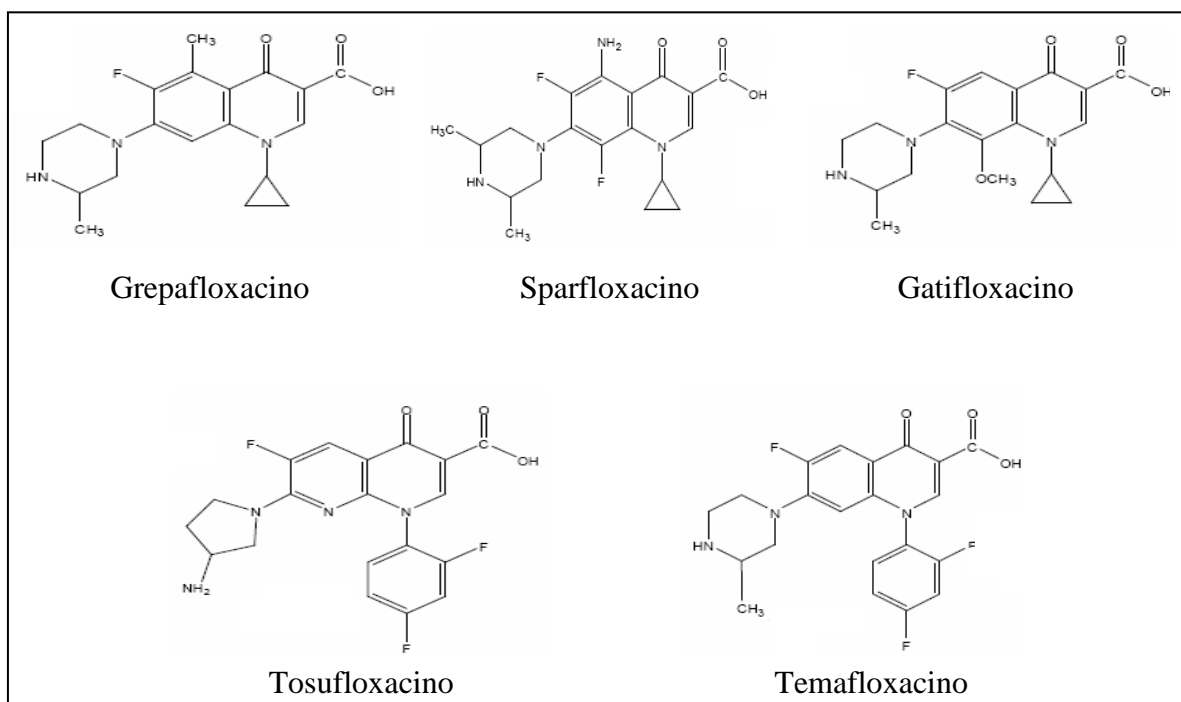
- **Tercera generación** (Figura 5): químicamente caracterizadas por la presencia de grupos cíclicos aminados en C7, siendo frecuentes la presencia de aminopirrolidinas y grupos azabiciclo, junto con la presencia de radicales en posición C5 y C8 (Tillotson, 1996; Gootz y Brighty, 1998).



Son una importante alternativa frente *Streptococcus pneumoniae*, incluyendo cepas resistentes a penicilina. Presentan una mayor actividad anti estafilocócica, pero no son útiles en infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* meticilin resistentes (Lowy, 1998).

También presentan una actividad levemente superior a las quinolonas de 2ª generación frente a anaerobios (Gootz y Brighty, 1998; Guinea y cols., 1995).

Algunas de ellas fueron retiradas del mercado después de aprobada su comercialización o se ha restringido su uso por sus efectos tóxicos (sparfloxacin, grepafloxacin) (Tálens-Visconti y cols., 2002).

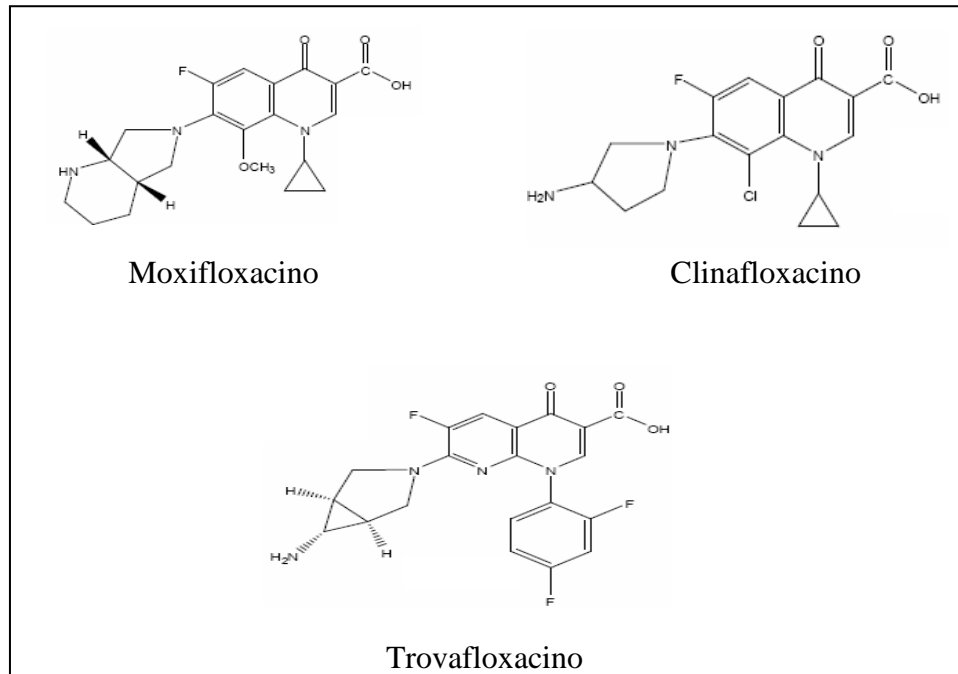


**Figura 5.- Principales quinolonas de tercera generación.**

- **Cuarta generación** (Figura 6): presentan mayor actividad antianaerobia, utilizándose en infecciones polimicrobianas como las abdominales y ginecológicas (Gootz y Brighty, 1998; Gargallo-Viola y cols., 1991; Philips y cols., 1998; King y cols., 2000).

Algunas de ellas presentan actividad antitumoral, demostrado en animales de experimentación, lo cual posibilitaría su aplicación en el tratamiento de ciertos procesos tumorales (Tálens-Visconti y cols., 2002).

Estas quinolonas siguen siendo objeto de debate y motivo de investigación, tanto en lo referente a su aplicación clínica en el tratamiento de enfermedades infecciosas, como porque actúan sobre dianas de procariotas y eucariotas.



**Figura 6.-** Principales quinolonas de cuarta generación.

Se han desarrollado nuevas estructuras como las 6-desfluorquinolonas, sin átomo de flúor en posición 6, el cual se había venido considerando imprescindible para un grado suficiente de actividad. Moléculas como garenoxacino y PGE 9262932 pertenecen a este grupo y se caracterizan por una aumentada actividad *in vitro*, espectro muy amplio y un reducido potencial de selección de resistencias (García y Muñoz, 2003).

Otro punto importante es la actividad frente a Gram negativos. Las nuevas moléculas desarrolladas mejoran discretamente su actividad frente a Enterobacterias y bacilos Gram negativos no fermentadores, siendo ciprofloxacino la fluorquinolona de elección frente a *Pseudomonas aeruginosa*. Es por ello que incrementar de forma significativa la actividad frente a Gram negativos es un objetivo deseable a conseguir (García y Muñoz, 2003).

### 2.3.- RELACIÓN ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD.

Las distintas modificaciones estructurales en las quinolonas modifica las mismas en cuanto a: actividad antimicrobiana, farmacocinética, toxicidad e interacciones con otros fármacos (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

Las sustituciones en la estructura básica de las quinolonas (figura 1, página 11) pueden ser:

- Constantes: aquellas que definen al grupo.
- Habituales: aquellas en las que las opciones de cambio son escasas (posiciones X2 y X6) y en ambas suele haber un nitrógeno o un carbono unido a un átomo o un radical muy pequeño.
- Variables: las posibilidades de cambio son mayores (R1, R5, R7 y X8), siendo la posición R7 la que mayor número de posibilidades de cambio posee.

#### ▪ Sustituciones en posiciones 1.

Los radicales ubicados en esta posición son variables pero esenciales en la actividad antimicrobiana y en las características farmacocinéticas. Van a ser los responsables de una de las uniones de la molécula de quinolona con la topoisomerasa (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004; Chu y Fernandes, 1989; Peterson, 2001).

En esta posición encontramos básicamente tres radicales distintos:

- Grupo etilo: ácido nalidíxico, pipemídico, norfloxacinó, pefloxacinó, enoxacinó y lomefloxacinó. En el caso de fleroxacinó, este grupo etilo está fluorado (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).
- Posteriormente, se añadieron grupos más voluminosos que mejoraron la actividad frente a patógenos tanto Gram negativos como Gram positivos. Se añadió entonces un grupo ciclopropilo, mejorando la actividad frente a Gram negativo (Appelbaum y cols., 2005). Este radical lo presentan: cprofloxacinó, sparfloxacinó, grepafloxacinó, clinafloxacinó, moxifloxacinó, gatifloxacinó y gemifloxacinó. Sitafloracinó, además, tiene un flúor unido al ciclopropilo. Este radical está considerado como el que ofrece mayor actividad a la molécula (Peterson, 2001).

- Radical 2,4-difluorofenilo: aumenta la actividad frente a Gram positivos, sobre todo frente a *Streptococcus pneumoniae* (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004; Chu y Fernandes, 1989; Peterson, 2001). Lo podemos encontrar en temafloxacino y tosufloxacino (Appelbaum y Hunter, 2000).

La presencia de un ciclopropilo o mejor de un radical terc-butilo asociado con un metoxi en posición C8, aumenta la actividad frente a las micobacterias (Renal y cols., 1996).

Otros radicales en esta posición parecen dar lugar a un descenso de la actividad de la molécula, probablemente por un menor número de enlaces entre la molécula y el enzima (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

#### ▪ **Sustituciones en posiciones 2.**

Sobre esta posición se han realizado pocos cambios. Aún así, el radical que se sitúe en esta posición ha de ser pequeño puesto que está íntimamente ligado al lugar de unión a las topoisomerasas (R3 y R4). La presencia de un radical voluminoso no permitiría la unión de la molécula al ADN (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004; Domagala, 1994; Stein, 1988).

Se han realizado diferentes sustituciones (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004; Domagala, 1994; Chum y fernández, 1989):

- Un carbono unido a un hidrógeno (C-H): presente en casi la totalidad de las quinolonas.
- Sustitución por un nitrógeno: lo podemos encontrar en cinoxacino (4-cinolona). Hace a la molécula menos activa, de ahí que se halla desarrollado poco.
- Sustitución por un átomo de azufre: no desarrollados.

#### ▪ **Sustituciones en posiciones 3 y 4.**

En estas dos posiciones encontramos un grupo carboxilo y un grupo ceto, respectivamente. Estos dos grupos son esenciales para la actividad antibacteriana de la molécula, puesto que son esenciales para el transporte al interior de la bacteria y para la unión de las topoisomerasas.

Si el radical en posición 3 se sustituye, la molécula ve reducida notablemente su actividad salvo en los casos *in vivo* que este radical se vuelve a convertir en carboxilo (Chu y Fernández, 1989, Higgins y cols., 2003).

En estas posiciones las quinolonas se unen al calcio, magnesio, hierro etc., y determinan una disminución de su absorción (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004; Domagala, 1994).

- **Sustituciones en posiciones 5.**

Esta posición parece influir alterando la configuración estérica de la molécula, afectando a la actividad, así como a su espectro de acción, concretamente modificaciones en este radical se ha visto que incrementan la actividad de la molécula frente a bacterias Gram positivas, aunque está fuertemente influenciado por sustituciones presentes en el resto de la molécula (Appelbaum y Hunter, 2000).

Un grupo metilo en esta posición aumenta la actividad frente a bacterias Gram positivas y no en bacterias Gram negativas (Yoshida y cols., 1996).

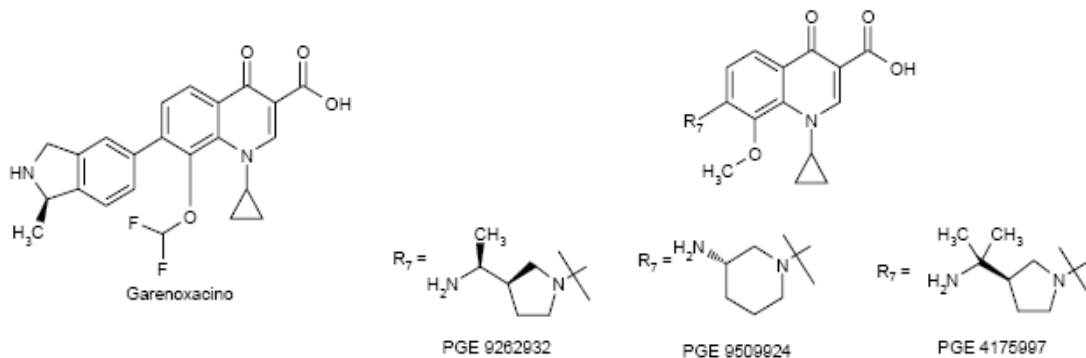
La mayoría de las quinolonas presentan un hidrogeno en esta posición (Appelbaum y Hunter, 2000). La presencia de un grupo amino (sparfloxacino), o un grupo hidroxilo o metilo (grepafloxacino) incrementan la actividad frente a Gram positivos (Andersson y Macgowan, 2003; Gutiérrez-Zufiaurre, 2004), y también frente a *Toxoplasma gondii* (Yoshida y cols., 1996).

Algunas presentan otros grupos más voluminosos como grupo metoxi o átomo de halógeno, sustituciones que disminuyen la actividad intrínseca de la molécula, posiblemente por interacciones con las posiciones 3 y 4 (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004; Appelbaum y Hunter, 2000).

- **Sustituciones en posiciones 6.**

Puede existir un nitrógeno (no admite sustitución), o un carbono (permite la introducción de otro radical que debe ser pequeño). La adición de un grupo flúor al carbono en esta posición mejoró la actividad intrínseca de la molécula de 5 a 100 veces comparado con las anteriores moléculas que no poseían esta sustitución dando lugar al grupo de las fluoroquinolonas (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

La presencia de un hidrógeno en posición 6 en lugar de flúor, dio lugar a un grupo nuevo de quinolonas llamadas 6-desfluoroquinolonas (Ledoussal y cols., 1999). Su principal representante es el garenoxacino (BMS-284756). Estas nuevas quinolonas mantienen o mejoran poco su actividad frente a bacterias Gram negativas y patógenos atípicos, y aumentan mucho su actividad frente a patógenos Gram positivos (Jones y cols., 2002; Roychoudhury y Ledoussal, 2002). Otras quinolonas no fluoradas son PGE 9262932, PGE 9509924 y PGE 4175997 (Barry y cols., 2001). Figura 7.



**Figura 7.-** 6-Desfluoroquinolonas o quinolonas no fluoradas.

Unos nuevos sustituyentes en esta posición son los 6-amino, 8-metilquinolonas, que aumentan la actividad frente a Gram positivos. Una sustitución en C7 de una tetrahydroisoquinolina aumenta de cuatro a cien veces la actividad de ciprofloxacino (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004; Cecchetti y cols., 1996).

- **Sustituciones en posiciones 7.**

Las sustituciones en esta posición son variables pero esenciales, al igual que en la posición 1. Esta posición interactúa directamente con la DNA-girasa o topoisomerasa IV, y será responsable de la actividad, espectro de acción, características farmacocinéticas e interacciones (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

Está bien establecido que la presencia de grupos heterocíclicos nitrogenados de 5 (aminopirrolidinas) o 6 (piperazinas) átomos de carbono se corresponde con una mayor actividad:

- La presencia de una aminopirrolidina (clinafloxacino, gatifloxacino, sitafloxacino) mejora la actividad frente a Gram positivos, mientras que una piperacina mejora la actividad frente a Gram negativos (Peterson, 2001).
- Los metilderivados de piperacinas (sparfloxacino, grepafloxacino, levofloxacino) o aminopirrolidinas (gatifloxacino) mejoran la actividad frente a Gram positivos (Piddock y cols., 1998).
- La presencia de un segundo anillo fusionado a la pirrolidina (moxifloxacino, trovafloxacino) muestra buena actividad sobre Gram positivos (Appelbaum y Hunter, 2000).

Recientemente se ha observado que un radical de gran tamaño parece tener influencia en la protección de la molécula frente a mecanismos de expulsión activa, además de prevenir la aparición de resistencias y aumentar su actividad frente a anaerobios (Peterson, 2001).

#### ▪ Sustituciones en posiciones 8.

Las sustituciones en este radical van a dar lugar a cambios en la estructura tridimensional de las moléculas, modificando la afinidad de las mismas por las topoisomerasas. Además, las sustituciones van a afectar los parámetros farmacocinéticos, la actividad frente a anaerobios, la fototoxicidad y la genotoxicidad de la molécula (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

Las quinolonas derivadas de las 4-naftiridonas no permiten ningún cambio en esta posición, ya que todas sus valencias están ocupadas, pero la presencia de este átomo de nitrógeno en posición 8 confiere a estos derivados una gran actividad *in vitro* e *in vivo* (Chu y Fernandes, 1989). En este grupo podemos encontrar al gemifloxacino o al trovafloxacino. En cambio, las moléculas derivadas de las 4-quinolonas, si permiten el modificar este radical. Podemos encontrar un radical cloro (sitafloxacino y clinafloxacino) o flúor (sparfloxacino), que presentan un gran aumento de actividad frente a anaerobios (Appelbaum y Hunter, 2000), aunque también aumenta la fototoxicidad (Domagala, 1994).

También podemos encontrar en esta posición un grupo metoxi o metilo (moxifloxacino y gatifloxacino, respectivamente) mejorando su actividad frente a bacterias Gram positivas y anaerobios, incluso aunque estos sean resistentes a las

quinolonas más antiguas, y aumenta el poder bactericida frente a *Escherichia coli* resistente a las quinolonas y *Mycobacterium tuberculosis* (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004; Zhao y cols., 1999).

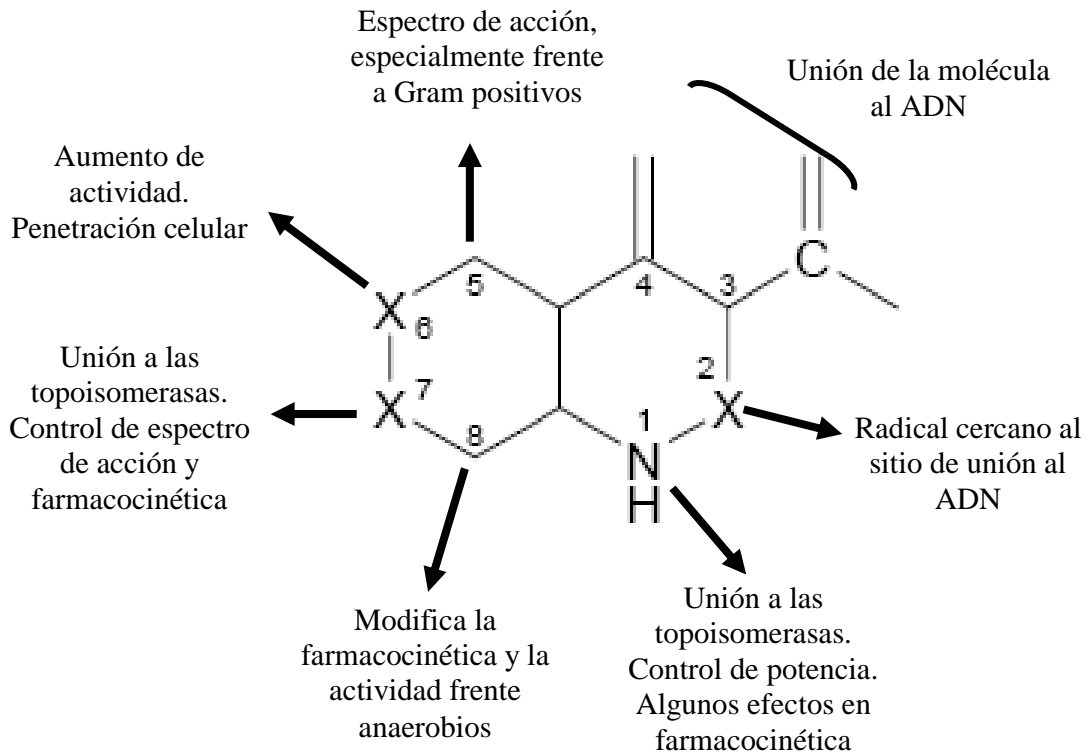
La presencia de estos diferentes radicales en la molécula de quinolona parece determinar qué topoisomerasa será la diana principal de dicha quinolona (al menos en Gram positivos). Así pues, la presencia de un hidrógeno (ciprofloxacino) o bien de un puente entre los radicales N1 y C8 (benzoxacinas, ofloxacino y levofloxacino) parecen tener como diana principal la topoisomerasa IV, mientras que la presencia de un grupo halogenado como cloro o flúor va a determinar una mayor afinidad por la DNA-girasa (sparfloxacino).

Por otro lado, los derivados de las 4-naftiridonas y los derivados de la 4-quinolona con radical metoxi en posición 8 (gatifloxacino y moxifloxacino) parece que actuarían indistintamente sobre cualquiera de las dos topoisomerasas (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004; Peterson, 2001).

A tener en cuenta es que tanto la presencia del nitrógeno en X8 como el grupo metoxi o metilo, disminuyen la posibilidad de selección de cepas resistentes a partir de silvestres, no así un átomo halogenado. La presencia de un grupo metoxi junto con un radical voluminoso en C7 previene la aparición de cepas resistentes en *Staphylococcus aureus* (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

En la siguiente Figura (8) se muestra un esquema donde se relacionan los diferentes radicales con las propiedades que pueden modificar (Andersson y Macgowan, 2003).





**Figura 8.-** Relación estructura y actividad de la molécula de quinolona.

## 2.4.- PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS.

Las quinolonas son sustancias cristalinas, de color blanco amarillento o amarillo pálido, poco solubles o insolubles en agua a pH neutro y solventes orgánicos, solubles en soluciones ligeramente alcalinas o ácidas y termorresistentes, por lo que pueden esterilizarse en autoclave. Son ácidos orgánicos con un pK elevado (Gobernado y Santos, 2002), fotosensibles y muy estables a la temperatura ambiente, sin pérdidas apreciables de su actividad, ni de sus propiedades físico-químicas al cabo de dos años (Dámaso, 1990).

Presentan grupos potencialmente ionizables. Las quinolonas como el ácido nalidíxico, flumequina y ácido oxolínico solo tienen un grupo relevante ionizable que es el grupo 3-carboxilo. Ofloxacino, norfloxacino y enoxacino, entre otros, tienen dos grupos ionizables, el 3-carboxilo y el sustituyente del N-4 de la piperazina (Hyoung-Ryun y cols., 2002).

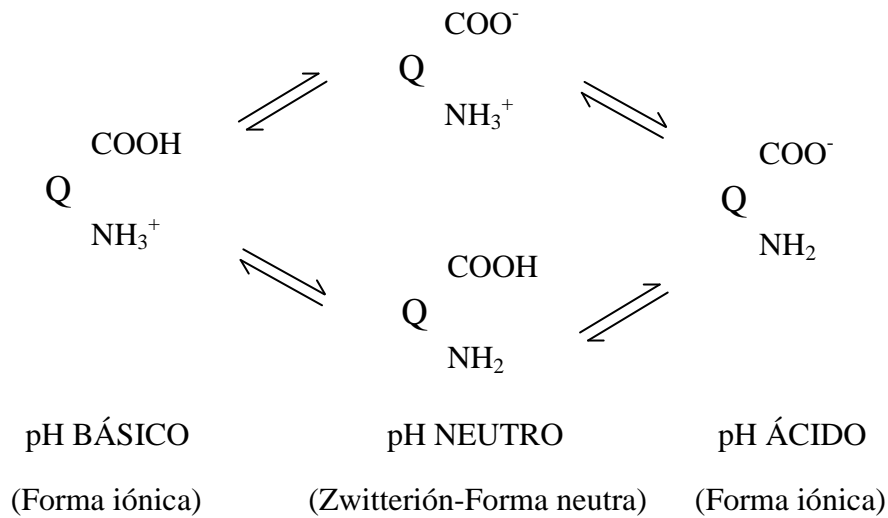
A continuación (Tabla 1) se muestran algunas constantes de ionización de algunas quinolonas, medidas a través de métodos espectrofotométricos (Martínez y cols., 2006):

QUINOLONAS	pKa1	pKa2
Ciprofloxacino	6,0	8,8
Difloxacino	6,1	7,6
Enoxacino	6,0	8,5
Enrofloxacin	6,0	8,7
Fleroxacino	5,7	8,0
Lomefloxacino	5,8	9,3
Norfloxacino	6,4	8,7
Ofloxacino	6,1	8,2
Pefloxacino	6,3	7,6
Sarafloxacino	6,2	8,6
Temafloxacino	5,6	8,8

**Tabla 1.-** Constantes de ionización de diferentes quinolonas. pKa1: constante de ionización del grupo 3-carboxílico; pKa2: constante de ionización del grupo N-4 piperazínico.

Las quinolonas poseen un grupo carboxílico de carácter ácido y un grupo amino de carácter básico y por tanto son moléculas de naturaleza anfotérica (Orero y cols., 2002). Con algunas excepciones, las fluorquinolonas presentan pobre solubilidad en agua, entre pH 6 y 8. Dentro de este rango, tienen baja solubilidad en agua y tienen predisposición a precipitar en virtud de las condiciones más ácidas (Jenkins y Friedlander, 1988). Es al parecer debido a esta propiedad que ha sido observada cristaluria en humanos y animales (Ball, 1986).

En función del pH extracelular se pueden encontrar cuatro formas de quinolona (Figura 9):



**Figura 9.-** Formas de quinolona en función del pH extracelular.

Así, a pH por debajo de  $\text{pK}_{a1}$  las quinolonas presentan carga positiva, mientras que a pH por encima de  $\text{pK}_{a2}$  tienen carga negativa. Valores bajos de  $\text{pK}_a$  determinan el rango de pH dentro del cual estos antibióticos son solubles en fluidos acuosos, siendo este dato importante para la disolución de suspensiones y tabletas (Martínez y cols., 2006).

Por tanto, el pH extracelular es un factor fundamental a tener en cuenta en los estudios de incorporación al interior celular. A pH fisiológico, las quinolonas presentan una forma zwitteriónica que les permite difundir pasivamente a través de la membrana plasmática en mayor o menor grado (Orero y cols., 2002; Michot y cols., 2005), pero presentan una baja solubilidad en fluidos acuosos (Martínez y cols., 2006). Es por ello que las formulaciones líquidas de varias quinolonas para administración oral o parenteral contienen sales solubles libres en soluciones acuosas. Las formulaciones sólidas contienen el principio activo en su forma betaine o a veces en forma de sal hidrocloreuro (Merck Veterinary Manual, 1998).

Por otro lado, se ha demostrado en estudios previos, que el coeficiente de partición octanol/agua,  $P_{app}$ , de cada fluorquinolona tiene influencia sobre las concentraciones de las mismas dentro de los microorganismos. De forma que en Gram

positivos, cuanto mayor  $P_{app}$  (mayor hidrofobicidad) aumenta la concentración de fluoroquinolonas dentro de la bacteria, y en Gram negativos la concentración de fármaco aumenta cuanto menor sea  $P_{app}$  (mayor hidrofilia) (Piddock, 1999).

La penetración, acumulación y localización de los antimicrobianos en el interior de las células fagocíticas son conceptos a tener en cuenta en terapéutica antimicrobiana. Para cuantificar el grado de penetración de un antimicrobiano se usa la relación entre la concentración intracelular y la extracelular del antimicrobiano (I/E). En las quinolonas, este cociente oscila entre 2 y 28, dependiendo del tipo de célula, de la quinolona considerada y de otros factores como el método utilizado (Gobernado, 2001). En la siguiente tabla (2) se aprecia mediante el valor que adquiere el cociente I/E, la penetración de diferentes quinolonas en los polimorfonucleares (Gobernado, 2001):

Quinolona	Polimorfonucleares
Ácido pipemídico	2,4
Norfloxacin	2,2-5,7
Ciprofloxacino	4-7
Ofloxacino	6,2-8,1
Levofloxacino	6,7-9,8
Moxifloxacino	6,3
Gatifloxacino	5

**Tabla 2.-** Penetración de diferentes quinolonas en polimorfonucleares, según el valor adquirido del cociente I/E.

## 2.5.- MECANISMO DE ACCIÓN.

En el año 1977 se demostró, en la bacteria *Escherichia coli*, la acción inhibitoria específica de la DNA-girasa del ácido nalidíxico, siendo esta su diana primaria y funcional. Posteriormente se descubrieron más especies bacterianas que poseían como diana la DNA-girasa (Yoshida y cols., 1993). Además, inhiben las actividades de la

topoisomerasa IV (Wolfson y Hooper, 1989). Así, DNA-girasa y topoisomerasa IV son las dianas de las quinolonas (Drlica y Zhao, 1977).

Las quinolonas penetran en el interior de la bacteria (citoplasma bacteriano) mediante un mecanismo de difusión pasiva a través de porinas (canales acuosos de la membrana externa) o de la capa de los lipopolisacáridos (Nikaido y Thanassi, 1993). Todas las fluorquinolonas se acumulan dentro de la bacteria muy rápidamente (Piddock, 1994). Ésta acumulación es antagonizada por cationes como el magnesio y calcio, quizás por la unión a la superficie, mediante la quelación de cationes divalentes.

Una vez en el interior de la bacteria, las quinolona se fijan a su principal diana, la DNA-girasa y la topoisomerasa IV, enzimas que pertenecen al grupo de las topoisomerasas (Tálens-Visconti y cols., 2002).

El mecanismo de acción de las quinolonas consiste en la formación de un complejo Quinolona-Enzima-ADN, provocando cambios conformacionales de la enzima que acaban bloqueando su acción normal, lo que inhibe la síntesis de ADN y acaba por provocar la muerte celular a través de la producción de exonucleasas y lisis celular (Blondeau, 2004; Chen y cols., 1996; Shen y cols., 1989; Dámaso, 1990; Gobernado y Santos, 2002).

Los efectos de las fluoroquinolonas sobre la proliferación bacteriana sugieren tres mecanismos de muerte celular (Guthrie y cols., 2004; Maxwell y Critchlow, 1998):

1. Mecanismo A: común a todas las fluoroquinolonas. Este requiere ARN y síntesis de proteínas y es solamente efectivo con bacterias en división. Este mecanismo bloquea la replicación mediante la formación del complejo girasa-quinolona sobre el ADN.
2. Mecanismo B: no requiere ARN ni proteínas de síntesis y puede actuar sobre bacterias que no están multiplicándose. Provoca una dislocación de las subunidades de la girasa y formación de un complejo ternario.
3. Mecanismo C: requiere ARN y proteínas de síntesis, pero no que las bacterias estén dividiéndose. Atrapa la topoisomerasa IV sobre el ADN.

El tipo de mecanismo de acción puede depender del microorganismo en cuestión. El ciprofloxacino, por ejemplo, muestra los mecanismos A y B contra

*Escherichia coli*, pero solamente el A frente a *Staphylococcus aureus* (Brighty y Gootz, 1997).

En cuanto a los modelos de acción de las quinolonas podemos resaltar lo siguiente:

- Los primeros estudios señalaron que las quinolonas (ácido nalidíxico) eran incapaces de unirse al DNA, y no fue hasta 1985 que Shen propuso que el norfloxacino se unía al DNA y no directamente a la DNA-girasa y que su grado de unión dependía de la topología del DNA. El modelo propuesto por él, se denominó “unión cooperativa quinolona DNA”, que propone una inhibición de la DNA-girasa de modo indirecto (Shen y cols., 1989). El principio se sustenta en la generación de un lugar de unión de la quinolona al DNA relajado de cadena sencilla (ssDNA), producto de la rotura del DNA por acción de la enzima. Este corte produciría un desapareamiento de 4 pares de bases, lugar óptimo para la unión de las moléculas de quinolonas a las bases del DNA a través de puentes de hidrógeno, y dichas moléculas se unirían cooperativamente entre sí por un proceso de autoensamblaje.
- Estudios sobre la estructura cristalina del ácido nalidíxico proponen dos posibles tipos de interacción entre las moléculas de quinolonas. Por un lado, posibles interacciones hidrofóbicas cola con cola entre grupos laterales de N-1 y apilamientos entre los anillos de quinolonas. Estas interacciones dan lugar a un complejo supramolecular que formaría una unidad consolidada y saturaría el espacio abierto en la molécula de DNA por la DNA-girasa, cancelando así los eventos posteriores del proceso del superenrollamiento catalizados por esta enzima. Este modelo, donde la diana primaria es el DNA, parte de los supuestos siguientes: a) la topología del lugar de unión generado por la DNA-girasa, y b) la capacidad de las moléculas de quinolonas de autoensamblarse y ocupar tales lugares. En esta propuesta se establecen diferentes dominios funcionales en la molécula de quinolona: una región de unión al DNA a través de puentes de hidrógeno, una región lipofílica que permitiría la autoasociación de las moléculas de quinolonas y otra región de interacción con la DNA-girasa, sugiriéndose que los sustituyentes en el C-7 de la molécula de quinolona podría interaccionar con gyrB de la enzima (Shen y cols., 1989).

Este concepto de unión quinolona-DNA ha sido ampliado, como fruto de diferentes observaciones sobre la posible modulación del proceso de unión, proponiéndose que las quinolonas no se unen al DNA a través de puentes de hidrógeno, sino a través de  $Mg^{2+}$ , entre sus mitades carbonil y carboxil y los grupos fosfato del DNA, y que no hay autoasociación entre moléculas de quinolonas. Además, las bases de la región de ssDNA interaccionan con el sistema planar del anillo de la molécula de quinolona, lo cual estabilizaría el complejo formado. También se ha sugerido que los sustituyentes en el C-7 y en el N-1 podrían estar implicados en la unión de la quinolona a la DNA-girasa.

- Los dos modelos comentados anteriormente parten de la premisa de que el DNA es la diana primaria de unión de las quinolonas, no obstante no existe un acuerdo general. Maxwell ha propuesto un modelo alternativo (Maxwell, 1997), en el cual la DNA-girasa es la diana primaria de las quinolonas, postulando que se requiere tanto la DNA-girasa como DNA para que las quinolonas interaccionen de forma estable, sustentándose en que la mayoría de mutantes de resistencia presentan cambios en la denominada “Región Determinante de Resistencia a Quinolonas” (QRDR) del gen *gyrA*, lo cual provoca una drástica reducción de la unión de la quinolona (norfloxacin) al complejo DNA-girasa DNA. Además, sugieren que los grupos carboxil del C-3 y oxo del C-4 de las quinolonas se unen por puentes de hidrógeno a las QRDR de la enzima. No obstante otros autores no descartan la participación de ciertos residuos de dicha región como el residuo Asp87 (Palumbo y cols., 1993; Vila y cols., 1994; Tálens-Visconti y cols., 2002).
- Otro modelo es el propuesto por Yoshida y cols. (1993), “quinolone pocket model”, el cual sostiene que las quinolonas interaccionan en la hendidura formada por el complejo DNA-girasa DNA durante el corte y unión del DNA. La unión estaría determinada conjuntamente por las subunidades *gyrA* y *gyrB* y muy posiblemente también por los iones  $Mg^{2+}$ . Este modelo está más acorde con las hipótesis de unión quinolona DNA-girasa, que con los modelos de unión quinolona DNA.

Las topoisomerasas se dividen en dos clases (Mizuuchi y cols., 1980; Tálens-Visconti y cols., 2002):

- Tipo I: actúan sobre una hélice del DNA. Pertenecen a este tipo las topoisomerasas I y III.
- Tipo II: actúan en ambas hélices del DNA. DNA-girasa y la topoisomerasa IV forman parte de este tipo. Son esenciales para el crecimiento bacteriano.

Las topoisomerasas I, II y IV están implicadas en la eficacia de la replicación y transcripción del DNA.

Otras topoisomerasas como la topoisomerasa V y la girasa reversa (topoisomerasas de tipo I) y la topoisomerasa VI (de tipo II) han sido descritas en arqueobacterias termófilas. Las topoisomerasas tipo I y las descritas en arqueobacterias no son diana para las quinolonas (Bouthier y cols., 1991; Nichols y cols., 1999).

La DNA-girasa es un complejo tetramérico,  $A_2B_2$ , formado por dos monómeros A (GyrA) y dos monómeros B (GyrB) codificados por los genes *gyrA* y *gyrB*. Las proteínas GyrA son las dianas de las 4-quinolonas.

Se requiere de ambas subunidades y de ATP para la plena actividad de la DNA-girasa. Los monómeros A intervienen en el corte y unión en determinados puntos del DNA, y los monómeros B inducen los superenrollamientos en torno al núcleo de RNA, se unen al ATP y participan en la transducción de la energía (Gellert y cols., 1976).

Parece que las quinolonas inhiben la acción de la DNA-girasa en la subunidad A impidiendo el cierre de los cortes producidos en el DNA, por lo que se inhibe su replicación (Tálens-Visconti y cols., 2002).

La DNA-girasa es la única enzima capaz de introducir un superenrollamiento negativo en la cadena de ADN (Hooper, 2000), facilitando la separación de la doble hélice de ADN para mantener la estructura de la horquilla de replicación (Drlica, 1999).

El complejo entre la enzima y el ADN consiste en aproximadamente 130 pares de bases localizadas en el núcleo de la proteína. La unión se realiza mediante enlaces covalentes entre la tirosina (Tyr 122) de la subunidad A con 4 bases libres que se generan después de crear una rotura en el ADN. Posteriormente, y mediante la hidrólisis de ATP (subunidad B), la ADN-girasa introduce un enrollamiento negativo en el ADN, relajando la estructura producida por la horquilla de replicación y volviendo a unir las dos cadenas de ADN (Heddle y cols., 2000; Schmitz y cols., 2002; Maxwell, 1997)



La topoisomerasa IV es una proteína hetero-tetramérica formada por la unión de dos subunidades C y dos subunidades E, codificadas en este caso en los genes *parC* y *parE* respectivamente. Esta topoisomerasa fue descrita en 1990 (Kato y cols., 1990).

Principalmente, la topoisomerasa IV es responsable del desencadenamiento de las dos moléculas “hijas” al finalizarse la replicación del ADN, permitiendo la segregación de los dos nuevos cromosomas bacterianos en dos nuevas células “hijas” (Drlica, 1999). También es responsable, como todas las topoisomerasas, de la relajación del ADN (Hooper, 1998; Zechiedrich y cols., 1997).

Los aminoácidos codificados por los genes *parC* y *parE* son homólogos a los codificados por *gyrA* y *gyrB*, respectivamente (Kato y cols., 1990). Esta similitud implica que las quinolonas puedan inhibir la actividad tanto de la DNA-girasa como de la topoisomerasa IV (Yoshida y cols., 1990).

En general, se acepta que las quinolonas ejercen su actividad a través de la girasa en las bacterias Gram negativas, mientras que en las Gram positivas su primera diana es la topoisomerasa IV (Schedletzky y cols., 1999; Stein, 2000; Taléns-Visconti y cols., 2002); sin embargo, en *Streptococcus pneumoniae* la actividad bactericida puede producirse a través de la girasa, la topoisomerasa IV o ambas, dependiendo de la estructura de la quinolona. Este hecho apunta a que la relación entre estructura y actividad puede ser diferente para cada especie bacteriana, según la actividad se produzca sobre una u otra enzima o en ambas (Tálens-Visconti y cols., 2002).

Las fluoroquinolonas, como las penicilinas, exhiben un efecto paradójico. Las curvas de supervivencia muestran que cuando la concentración de fluoroquinolonas está cerca de la concentración mínima inhibitoria (CMI ó MIC) de la bacteria, el fármaco detiene el crecimiento bacteriano (efecto bacteriostático). Sin embargo cuando se incrementa la concentración de las quinolonas en relación a las CMIs bacterianas, aumenta la muerte celular hasta una cierta concentración de fármaco (concentración bactericida óptima). Un incremento por encima de esta concentración óptima puede conducir a un descenso del efecto bactericida. Esta relación entre el efecto de las quinolonas y su concentración se debe a las diferencias entre la concentración necesaria para inhibir el superenrollamiento y la concentración necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano. En general, parece que la reacción de superenrollamiento de la girasa es menos sensible a las quinolonas que el crecimiento bacteriano (Guthrie y cols., 2004; Maxwell y Critchlow, 1998).

## 2.6.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO.

Las quinolonas actúan específicamente sobre el DNA por lo que son rápidamente bactericidas y muestran efecto post antibiótico (Vancutsem y cols., 1990; Mckellar, 1996).

Las fluorquinolonas actúan como antibióticos concentración dependientes frente a bacterias Gram negativas. Frente a Gram positivas su efecto es tiempo dependiente o una combinación de ambos efectos (Cester y cols., 1996).

Una de las características de estos antibióticos es que la relación entre la concentración *in vitro* del antimicrobiano y la muerte bacteriana describe una curva de tipo bifásico, con disminución del efecto bactericida a muy altas concentraciones. Esto puede deberse a una inhibición de la síntesis de RNA a muy altas concentraciones de fármaco, síntesis que es necesaria para que haya efecto bactericida (Otero y cols., 2001).

Las fluorquinolonas incluso a concentraciones por debajo de la CMI (Wetzstein y De Jong, 1996):

- Inhiben la división celular.
- Reducen la tasa de crecimiento bacteriano.
- Inducen cambios en la ultraestructura de la superficie bacteriana que previene la colonización de tejidos específicos.
- Interfieren en la expresión de factores de virulencia.
- Aumentan la susceptibilidad de algunos microorganismos a la fagocitosis.

La eficacia de las fluorquinolonas puede verse afectada por el pH del medio. Se ha comprobado menor actividad contra bacterias Gram negativas en medio ácido que en medio básico. Las bacterias Gram positivas parecen no verse afectadas por el pH (McKellar, 1996; Brown, 1996). Wetzstein demostró que en pH ligeramente ácido (tejidos inflamados, abscesos o fagocitos) se reduce la tasa de muerte de algunas

bacterias en presencia de enrofloxacino. En contraste, a pH 8 la actividad bactericida del enrofloxacino no varía (Wetzstein y De Jong, 1996).

Las fluorquinolonas presentan una serie de características microbiológicas (Otero y cols., 2001):

- Rápida actividad bactericida a concentraciones relativamente bajas.
- Estrecha relación entre la CMI y la concentración bactericida mínima con menor efecto de inóculo para la mayoría de los organismos.
- Prolongado efecto post antibiótico sobre *Estafilococos*, *Enterobacterias* y *Pseudomonas*.
- No seleccionan mutantes resistentes mediados por plásmidos.
- Frecuencia de resistencia mutacional baja ( $<10^{-9}$ ).
- No alteran la flora de *Streptococos* y anaerobios intestinales.
- Inhiben a las bacterias resistentes a los aminoglucósidos y betalactámicos.

### **2.6.1.- ACTIVIDAD FRENTE A COCOS GRAM POSITIVOS.**

La actividad de las primeras 4-quinolonas (como el ácido nalidíxico y el cinoxacino) frente a *Streptococcus pneumoniae* era nula y solo tenían poca actividad las primeras fluorquinolonas (enoxacino, fleroxacino, norfloxacino, lomefloxacino, rufloxacino etc.) (Felmingham y cols., 1985; Ridgway y cols., 1985). La actividad fue mejorando con posteriores fluorquinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino, sparfloxacino, trovafloxacino, moxifloxacino, gemifloxacino etc.) (Bauernfeind, 1997; Felmingham y cols., 1999; Hoellman y cols., 1999; Visalli y cols., 1997). En la tabla 3 se especifican las CMI<sub>50</sub> y CMI<sub>90</sub> de diferentes 4-quinolonas y fluorquinolonas frente a *Streptococcus pneumoniae*.

Cinafloxacino, gemfloxacino y sitafloxacino tienen una gran actividad, con valores de CMI<sub>90</sub> bajos de 0,016-0,125 mg/L.

Varios estudios han demostrado la capacidad de las fluorquinolonas para matar neumococos a concentraciones aproximadamente ocho veces su CMI (Fung-Tomc y cols., 1999; Visalli y cols., 1996).

Frente a *Streptococcus pyogenes*, las nuevas fluorquinolonas han demostrado valores de CMI<sub>90</sub> similares a los observados contra neumococos, sobre todo gemifloxacino y sitafloxacino (Nakane y cols., 1995; Cormican y Jong, 1997).

La actividad de las primeras fluorquinolonas, como ciprofloxacino y ofloxacino, es sólo modesta frente a *Staphylococcus aureus* sensibles a meticilina y *Staphylococcus epidermidis*, con CMI<sub>90</sub> valores de 0,5-1 mg/L, mejorando con grepafloxacino y sparfloxacino con valores de 0,12-0,25 mg/L. Posteriores estudios con clinafloxacino, gatifloxacino, gemifloxacino, moxifloxacino, sitafloxacino y trovafloxacino indican mayor actividad, con valores de de 0,03-0,06 mg/L (Ednie y cols., 1997; Bauernfeind, 1997; Nekane y cols., 1995; Cormican y Jones, 1997; Woodcock y cols., 1997).

QUINOLONA	CMI (mg/L)		
	RANGO	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>
Ácido nalidíxico	>128	128	>128
Cinoxacino	>128	>128	>128
Enoxacino	3,1-50	8-12,5	12,5-16
Fleroxacino	6,25-25	12,5	12,5
Norfloxacino	2-32	4-6,25	8-12,5
Lomefloxacino	2-16	4	8
Rufloxacino	1-64	8	16
Ciprofloxacino	0,5-4	1-2	2-4
Levofloxacino	0,5-2	1	2
Sparfloxacino	0,125-1	0,25	0,5
Trovafloxacino	0,06-0-5	0,125	0,25
Moxifloxacino	0,06-0-5	0,125	0,25
Clinafloxacino	0,03-0,125	0,06	0,125
Sitafloxacino	≤0,008-0,125	0,06	0,125
Gemifloxacino	≤0,004-0,25	0,016	0,016

**Tabla 3.-** CMI<sub>50</sub> y CMI<sub>90</sub> de diferentes 4-quinolonas y fluorquinolonas frente a *Streptococcus pneumoniae*.

### 2.6.2.- ACTIVIDAD FRENTE A GRAM NEGATIVOS.

Las primeras fluorquinolonas presentaban una excelente actividad frente a Gram negativos incluyendo la mayoría de las especies de *Enterobacterias* y *Haemophilus influenzae*, y modesta actividad frente a no fermentadores, incluyendo *Pseudomonas aeruginosa*. Con algunas quinolonas, al aumentar la actividad frente a cocos Gram positivos se observa una disminución de la actividad frente a Gram negativos. Con las fluorquinolonas sintetizadas posteriormente, esta tendencia es menor, así clinafloxacino, gatifloxacino, moxifloxacino, sitafloxacino y trovafloxacino conservan gran parte de la actividad de ciprofloxacino. Clinafloxacino, gemifloxacino y sitafloxacino son aún más parecidos a ciprofloxacino en cuanto a actividad contra la mayoría de los Gram negativos (Ednie y cols., 1997; Nakane y cols., 1995; Cormican y Jones., 1997).

Frente a especies de *Kebsiella* y *Enterobacter* resistentes a ciprofloxacino, sitafloxacino y clinafloxacino, han demostrado una gran actividad en comparación con otras nuevas fluorquinolonas (Deguchi y cols., 1997; Brisse y cols., 1999).

En cuanto a la actividad frente a *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*, destaca que son altamente susceptibles a la mayoría de las fluorquinolonas. Ciprofloxacino y ofloxacino tienen excelente actividad, la cual no se ha perdido con los nuevos compuestos, la mayoría con igual actividad que ciprofloxacino. Clinafloxacino y gemifloxacino han mejorado ligeramente su actividad (Bauernfeind, 1997).

Han aparecido *Haemophilus influenzae* resistentes a fluorquinolonas y la actividad de las nuevas fluorquinolonas frente a estas especies ha disminuido, con una CMI<sub>90</sub> de 1-2 mg/L para la mayoría de los compuestos. Gemifloxacino ha demostrado ser más activa que otras fluorquinolonas frente a estas especies resistentes, con una CMI<sub>90</sub> de 0,25 mg/L (Davies y cols., 1999).

### 2.6.3.- ACTIVIDAD FRENTE A GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES.

Entre las especies Gram negativas no fermentadoras se encuentran *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Stenotrophomonas* y *Burkholderia spp.* Las primeras 6-fluorquinolonas (ciprofloxacino, ofloxacino y levofloxacino) tienen una actividad variable frente a éstas especies.

Ciprofloxacino es generalmente más activo que los nuevos agentes contra la mayoría de las especies de *Pseudomonas aeruginosa*. Ofloxacino, levofloxacino y sparfloxacino tienen una pobre actividad y gatifloxacino, gemifloxacino, moxifloxacino y trovafloxacino tienen una actividad más parecida a ciprofloxacino (Cormican y Jones, 1997; Woodcock y cols., 1997; Visalli y cols., 1997). Por el contrario, clinafloxacino y sitafloxacino tienen una actividad igual o mejor que ciprofloxacino (Bauernfeind, 1997; Ednie y cols., 1997; Nakane y cols., 1995; Visalli y cols., 1997). Además, clinafloxacino tiene mayor actividad que otras fluorquinolonas contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a quinolonas, aunque las CMI<sub>s</sub> sean considerablemente más elevadas que contra especies sensibles (1-8 mg/L) (Ednie y cols., 1997). También sitafloxacino tiene mejor actividad frente a cepas resistentes a *Pseudomonas aeruginosa*, vinculado principalmente por el cloro en posición 8, sustituyente causante de su fototoxicidad (Nakane y cols., 1995; Kitamura y cols., 1995).

*Acinetobacter spp.* tiene una respuesta, en general, bimodal frente a las quinolonas. La actividad de las nuevas quinolonas frente a especies sensibles a ciprofloxacino ha sido estudiada y se ha comprobado que son más activas que ciprofloxacino (Ednie y cols., 1997; Nakane y cols., 1995; Cormican y Jones, 1997), pero frente a cepas resistentes a quinolonas todos los compuestos tienen menor actividad. Clinafloxacino y sitafloxacino conservan una mayor actividad, aunque sus valores de CMI<sub>90</sub> son elevadas (1-4 mg/L) (Ednie y cols., 1997).

#### 2.6.4.- ACTIVIDAD FRENTE A ANAEROBIOS.

La actividad de las primeras fluorquinolonas (ciprofloxacino, ofloxacino, levofloxacino, pefloxacino y enoxacino) frente a anaerobios como: grupo de *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium spp.*, *Provetella*, *Porphyromonas* y *Clostridium* era dudosa y variable (Appelbaum, 1995). Las nuevas moléculas de fluorquinolonas han demostrado una mejor actividad frente a anaerobios. Sparfloxacino y grepafloxacino tienen mejor actividad que ciprofloxacino, ofloxacino y levofloxacino, pero no son tan activas como gatifloxacino, moxifloxacino, sitafloxacino y trovafloxacino (Ednie y cols., 1998; Goldstein y cols., 1999; MacGowan y cols., 1997).

La actividad de las nuevas fluorquinolonas frente a *Clostridium difficile* es buena, la mayoría con clara mejoría en comparación con ciprofloxacino (Spencer, 1998).

#### 2.6.5.- ACTIVIDAD FRENTE A PATÓGENOS ATÍPICOS.

*Mycoplasma*, *Chlamydia* y *Legionella pneumophila*, son patógenos reconocidos como causantes de enfermedades del aparato respiratorio. Las primeras 4-quinolonas tenían una insignificante o en el mejor de los casos modesta actividad frente a éstos patógenos (Heessen y Muytjens, 1984; Ridgway y cols., 1984) y moderada frente a *Legionella pneumophila* (Deforges y cols., 1986), mejorando su actividad las primeras 6-fluorquinolonas como ciprofloxacino, ofloxacino y levofloxacino (Felmingham y cols., 1985). Los nuevos agentes tienen una gran actividad pudiendo compararse con macrólidos y con doxiciclina, como ocurre con trovafloxacino, gatifloxacino, moxifloxacino y gemifloxacino. La tabla 4 muestra un resumen de los resultados de estos compuestos en comparación con macrólidos y doxiciclina frente *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Legionella pneumophila* y *Mycoplama pneumoniae* (Roblin y cols., 1997; Jones y cols., 1997; Dubois y St-pierre, 1999; Wise y cols., 1997; Woodcock y cols., 1997; Felmingham y cols., 1985).

Los rangos de CMI, en algunos casos, son amplios. No obstante grepafloxacino, gatifloxacino, moxifloxacino, trovafloxacino y gemifloxacino tienen buena actividad, particularmente trovafloxacino frente a *Legionella pneumophila*.



COMPUESTO	VALOR CMI (mg/L)			
	<i>C. pneumoniae</i>	<i>C. trachomatis</i>	<i>L.pneumophila</i>	<i>M.pneumoniae</i>
Ciprofloxacino	2	-	0,016-0,25	0,5-2-5
Ofloxacino	0,25-2	1-4	0,008-0-03	1-2
Levofloxacino	0,25-1	0,25-0,5	0,016	-
Grepafloxacino	0,06-0,5	0,06-0,12	0,008-0,05	0,06-0,5
Gatifloxacino	0,06-0,25	0,06-0,25	0,016-0,03	0,05-0,13
Moxifloxacino	0,03-0,5	0,03-0,125	0,016	0,06-0,12
Trovafloxacino	0,12-1	0,12	≤0,008-0,06	0,06-0,25
Gemifloxacino	0,06-1	0,03-0,12	0,016	0,05-0,1
Eritromicina	0,025-0,5	0,06-0,5	0,03-1	0,01-0,05
Claritromicina	0,03-0,25	0,004-0,03	0,015-0,06	0,004-0,03
Azitromicina	0,015-0,5	0,12	0,25	0,001-0,0025
Doxiciclina	0,06-0,5	0,03-0,12	-	0,06-2,5

**Tabla 4.-** Actividad de fluorquinolonas, macrólidos y doxiciclina frente a distintos patógenos atípicos.

## 2.7.- EFECTO POSTANTIBIÓTICO DE QUINOLONAS.

Bigger en 1944 fue el primero en observar este efecto en *Staphylococcus* y *Streptococcus* previamente expuestos a penicilina G, y pocos años después se comprobó con el mismo antibiótico y *Staphylococcus* (Parker y Marsh, 1946). Otros autores fueron capaces de demostrarlo con penicilina y otros cocos Gram positivos tanto “*in vitro*” como “*in vivo*” (Eagle y Musselman, 1949).

Sin embargo, la importancia de este fenómeno empieza considerarse en los años 70, cuando se encuentra en varios antimicrobianos nuevos y también en bacterias Gram negativas (Mc. Donald y cols., 1976; Wilson y Rounson, 1979). Así, se definió el término de “efecto postantibiótico” (EPA), encontrándose su mayor aplicación clínica en la posibilidad de espaciar los regímenes de dosificación de un antimicrobiano sin perder eficacia, y se estandarizan las técnicas para valorarlo.

El efecto postantibiótico (EPA) se define como la supresión de crecimiento bacteriano que persiste tras una limitada exposición de los microorganismos a un antimicrobiano (Mc. Donald y cols., 1977).

Los antimicrobianos que actúan a nivel del ribosoma, ARN o ADN como los aminoglicósidos, quinolonas y macrólidos, inhiben la síntesis de proteínas. Así, el EPA podría significar un período de resíntesis de estas proteínas necesarias para el metabolismo o el crecimiento bacteriano y si la unión del antimicrobiano es irreversible la actividad persiste aunque éste haya sido retirado (Vogelman y Craig, 1985).

Existen diferentes factores que pueden influir en la duración del efecto postantibiótico:

- Tipo de antimicrobiano y microorganismo: Es el factor que más influye en la duración del EPA tanto “*in vitro*” como “*in vivo*”. En general se puede decir que influye si la bacteria es Gram-positiva o Gram-negativa, la especie microbiana, si es anaerobia o no, su resistencia, etc. El antimicrobiano es importante puesto que cada uno posee diferente grado de acción sobre las distintas bacterias y por tanto diferente capacidad de “daño” celular (Craig y Gudmundsson, 1991; Vogelman y Craig, 1985; Vogelman y cols., 1988).
- Concentración de antimicrobiano: Para que se produzca EPA es necesario una concentración adecuada del antimicrobiano. En muchos

antibióticos el EPA parece ser proporcional a la concentración (aminoglicósidos, quinolonas) aunque hay otros parámetros que también influyen (concentración máxima en suero, dosis total, etc...) (Chin y Neu, 1987; Dalhoff y Ullmann, 1990; Vogelman y Craig, 1985; Vogelman y cols., 1988).

- Duración de la exposición: El tiempo en que los niveles de antimicrobiano permanecen por encima de la CMI aumenta, en general, la duración del EPA. Se debe tener precaución en no provocar una excesiva muerte bacteriana ya que esto nos dificultaría la detección del crecimiento. Este factor está ligado, en algunos casos, a la concentración del antimicrobiano y otros parámetros que expresan “*in vivo*” la farmacocinética de un antibiótico, como el área bajo la curva (ABC o AUC), el nivel máximo de concentración, etc. (Gobernado y Santos, 1988).
- Fase de crecimiento del microorganismo: Normalmente se utilizan en todas las técnicas bacterias en fase logarítmica de crecimiento, pero hay antimicrobianos que actúan también sobre microorganismos en fase estacionaria. Este puede ser un factor importante, sobre todo “*in vivo*” y con antibióticos de vida media larga (Smith y Lewin, 1988).

El EPA se demuestra por seguimientos microbiológicos de la cinética de crecimiento después de la eliminación del antimicrobiano (Gobernado y Santos, 2002). Actualmente, se aceptan definiciones distintas en función de las condiciones en las que se determina el efecto postantibiótico. Así, se encuentra el “efecto postantibiótico *in vitro*” o periodo de tiempo durante el cual no existe crecimiento bacteriano tras una breve exposición de los microorganismos al antimicrobiano y “efecto postantibiótico *in vivo*” o la diferencia en tiempo que se establece, para que el número de bacterias se incremente  $1\log_{10}$ , entre los animales del grupo control y los tratados, cuando la concentración del antimicrobiano en plasma o en el lugar de la infección desciende por debajo de la CMI (Mouton y cols., 2005).

Durante el período postantibiótico se pueden observar los siguientes efectos:

- Cambios morfológicos: la observación de las bacterias por microscopía electrónica, durante el tiempo que dura la fase EPA, ha puesto de manifiesto que las células están alteradas morfológicamente, adoptando

formas globosas o filamentosas, después de la exposición al antimicrobiano. Ciprofloxacino produce una hinchazón de las bacterias con formación de vacuolas en el citoplasma en la mayoría de *Staphylococcus aureus* durante la fase EPA (Pastor y Cantón, 1999).

- Mayor susceptibilidad a la acción de los leucocitos (postantibiotic leukocyte enhancement o PALE): este fenómeno hace referencia a la mayor susceptibilidad de las bacterias en fase de EPA para ser fagocitadas por los leucocitos. El PALE fue observado por Mc. Donald y Pruil (Mc. Donald y cols., 1981) y más tarde por otros investigadores en bacterias Gram negativas y Gram positivas.

El EPA puede ser consecuencia de:

- La alteración de los factores de virulencia bacteriana, como la alteración de la actividad hemolítica observada sobre *Escherichia coli* en presencia de quinolonas; la disminución de la síntesis de proteasas y exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa* tras la exposición a concentraciones subinhibitorias de ciprofloxacino o la disminución de la adherencia de la bacteria a las células eucariotas inducida por las fluoroquinolonas (Pastor y Cantón, 1999; Lees y Aliabadi, 2002b).

- La inhibición de la bomba de eflujo, que ha sido demostrada durante la fase de EPA (Lees y Aliabadi, 2002b). Ello se debe a que después de la exposición a las quinolonas, las bacterias tienen reducido su metabolismo y no son capaces de generar suficiente energía para expulsar al antimicrobiano de la célula mediante los sistemas de eflujo (Pastor y Cantón, 1999).

Las quinolonas producen un efecto postantibiótico de duración variable, tanto sobre bacterias Gram positivas, como sobre bacterias Gram negativas. Sobre las bacterias Gram positivas los EPA inducidos suelen ser, por lo general, intermedios en duración (90 y 180 minutos). Las quinolonas producen efectos postantibióticos inferiores a 3 horas sobre *Staphylococcus aureus*, con la excepción de sparfloxacino y ofloxacino, que son las quinolonas que inducen los EPA más largos, de 2 a 5 horas de duración. Pefloxacino genera un EPA menor de 90 minutos y norfloxacino induce un efecto postantibiótico aún más corto (<60 minutos). Sobre las bacterias Gram negativas, las quinolonas inducen efectos postantibióticos intermedios (de 1,5 a 3 horas), a

excepción de ciprofloxacino frente a *Enterobacter aerogenes* y lomefloxacino frente a *Escherichia coli*, para los que se ha observado un efecto postantibiótico siempre menor de 1,5 horas (Gobernado y Santos, 2002).

Enrofloxacinó tiene un efecto post antibiótico de 1 a 4 horas de duración (según dosis y microorganismo) contra *Staphylococcus intermedius*, *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus* (Mckellar, 1996; Spreng y cols., 1995; Wetzstein y Jong, 1996).

La aplicación más importante del EPA está en los protocolos de dosificación de los antimicrobianos. Así, determinadas combinaciones de microorganismo-anti-microbiano que induzcan un EPA prolongado podrán administrarse de forma intermitente sin miedo a perder eficacia. Las ventajas de este tipo de dosificación se traducirían en una dosificación más cómoda, reducción de los riesgos de toxicidad y disminución de los costes sanitarios (material desechable, personal especializado para pinchar, etc) (Esposito y cols., 1988; Tulkens, 1991).

## **2.8.- RESISTENCIAS BACTERIANAS.**

La resistencia a quinolonas ha sido un problema desde que el ácido nalidíxico fuera introducido hace más de cuarenta años. Además, el incremento de su uso ha aumentado la resistencia a estos antimicrobianos (Jacoby, 2005).

Las quinolonas para ejercer su efecto citotóxico deben penetrar a través de la membrana bacteriana para poder alcanzar su diana celular, la DNA-girasa o la topoisomerasa IV, y de esta forma producir la muerte celular. Es por ello, que las resistencias a quinolonas pueden deberse a mutaciones que afecten cualquier paso de este proceso (Taléns-Vistonti y cols., 2002).

El amplio espectro de actividad antimicrobiana, y el excelente comportamiento farmacocinético, han hecho de las nuevas fluorquinolonas agentes muy atractivos para el tratamiento de enfermedades infecciosas severas, tanto en el hombre como en los animales. Sin embargo, se ha informado una alarmante tasa de resistencia bacteriana en aislados clínicos humanos, y hay evidencias que indican la emergencia de bacterias resistentes en animales tratados. La mayor incidencia de bacterias resistentes a fluorquinolonas en personas no expuestas a estos agentes podría ser el resultado del uso extensivo de estos antimicrobianos en medicina veterinaria (Otero y cols., 2001).

En lo referente a resistencias de cocos Gram positivos, diversos estudios en Hong Kong y Canadá han demostrado un aumento de las resistencias de *Streptococcus pneumoniae* a nuevas fluorquinolonas, concretamente a ciprofloxacino y ofloxacino (Ho y cols., 1999; Chen y cols., 1999). También se han observado resistencia a estafilococos a las primeras fluorquinolonas como consecuencia de su actividad moderada. Especies resistentes a meticilina de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* han desarrollado resistencia a ofloxacino o ciprofloxacino (Bauernfeind, 1997; Ednie y cols., 1997).

Resistencias a ciprofloxacino se han considerado en algunas especies de Gram negativos como Enterobacterias, la mayoría de las veces en las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella* y *Enterobacter spp.* (Appelbaum y Hunter, 2000).

Se han detectado resistencias bacterianas a enrofloxacino en diferentes especies: *Escherichia coli* (Abd El Kader A., 1995), *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* (Aarestrup y cols., 1997; Jacobs-Reitsma y cols., 1994).

Las resistencias bacterianas pueden agruparse en distintas categorías:

- Alteraciones en las dianas.
- Alteraciones en la permeabilidad bacteriana.
- Resistencia por los sistemas de eflujo.
- Otros mecanismos de resistencia.

Cada uno de los mecanismos de resistencia a las fluoroquinolonas puede ocurrir simultáneamente en la misma célula, conduciendo a elevados niveles de resistencia. Hasta la fecha, no han sido descubiertos mecanismos basados en la modificación/inactivación enzimática de las quinolonas, ya que estas son antibióticos sintéticos que no tienen análogos naturales, y por tanto, es menos común que aparezca este tipo de mecanismo (Wolfson y Hooper, 1989).

### **2.8.1.- ALTERACIONES EN LAS DIANAS.**

Estas resistencias son de tipo cromosómico que dan lugar a mutaciones de los cromosomas en segmentos definidos de los genes que se traducen en alteraciones en la girasa y la topoisomerasa IV, dando lugar a las QRDR (región determinante en la

aparición de resistencias bacterianas a las quinolonas) (Wolfson y Hooper, 1989; Nakamura, 1997).

Los primeros estudios realizados en *Escherichia coli* sostienen que la principal causa de resistencia a quinolonas es debida a mutaciones en la subunidad GyrA y en menor grado en la subunidad GyrB de la DNA-girasa (Yoshida y cols., 1990; Cullen y cols., 1989). Las mutaciones en las regiones equivalentes de las proteínas ParC y ParE de la topoisomerasa IV tienen lugar posteriormente (Heisig, 1996). Concretamente es en el residuo de serina 83 (Ser83) y aspartato 87 de la subunidad gyrA y en la serina 79 y aspartato 83 de parC de *Escherichia coli* donde se producen resistencia a diversas quinolonas y en sus sitios análogos en otras especies (Bebear y cols., 2003; Drlica y Zhao, 1997; Piddock y Johnson, 2002).

Estudios en los genes de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* muestran que la situación puede ser al contrario en bacterias Gram positivas, donde la topoisomerasa IV (codificada por grlA y grlB) es el objetivo primario de las quinolonas (Muñoz y De La Campa, 1996; Ng y cols., 1996).

En ambos casos, las mutaciones disminuyen la afinidad de la quinolona por el complejo enzima-DNA y permiten continuar con la replicación del DNA en presencia de concentraciones de quinolonas que son inhibitorias del crecimiento celular (Martínez y cols., 2006).

Los mayores aportes al respecto han sido efectuados en *Streptococcus pneumoniae*, los cuales también han revelado que la relación entre estructura y actividad de las quinolonas puede ser diferente para cada especie bacteriana (Hooper, 2000; Taléns-Viscont y cols., 2002). Así, de acuerdo al orden mutacional en las QRDR de la DNA-girasa y topoisomerasa IV, los mutantes resistentes de *Streptococcus pneumoniae* se pueden agrupar en tres clases. El primer grupo, inicialmente identificado por su resistencia al ciprofloxacino y también al levofloxacino, norfloxacino, perfloxacino y trovafloxacino, se caracteriza por presentar mutaciones en la topoisomerasa IV antes que en la DNA-girasa, lo que sugiere que *in vivo*, estos fármacos actúan preferentemente sobre la primera enzima. Un segundo grupo de mutantes, compuesto por resistentes al sparfloxacino, grepafloxacino, gatifloxacino, moxifloxacino y NSFQ-105 (homólogo al ciprofloxacino con un grupo 4-4-aminofenilsulfonil-1- piperacínilo en el C-7), presenta mutaciones en la DNA-girasa antes que en la topoisomerasa IV, lo que señala a aquella como su diana principal. Finalmente, el clinafloxacino y gemifloxacino

actúan sobre ambas dianas, la DNA-girasa y la topoisomerasa IV, aunque se generan en primer lugar mutaciones en *gyrA* y *gyrB*, estas mutaciones suceden con bajas frecuencias, lo que indica que ambas contribuyen de forma importante en la acción del fármaco (Taléns-Visconti y cols., 2002).

En resumen podemos destacar lo siguiente de una forma general: la ADN-girasa es la diana principal en microorganismos Gram negativos, mientras que en bacterias Gram positivas la diana principal es la topoisomerasa IV. Así, las primeras mutaciones en Gram negativos las encontraremos en el gen *gyrA*, mientras que en Gram positivos las encontraremos en el gen *parC* (*grlA* para *Staphylococcus aureus*).

### **2.8.2.- ALTERACIONES EN LA PERMEABILIDAD BACTERIANA.**

La resistencia a las fluoroquinolonas producida por mutaciones conlleva una disminución de la susceptibilidad o resistencia a esta clase de antibióticos, tanto a quinolonas de humana como de veterinaria (Everett y cols., 1996; Piddock y cols., 1998). Sin embargo, las resistencias producidas por una disminución de la permeabilidad o alteración de las bombas de eflujo, son menos específicas, generando múltiples resistencias cruzadas a otros antibióticos no relacionados estructuralmente, como cefemas, penemas y tetraciclinas (Poole, 2000).

Las quinolonas son moléculas hidrofílicas, que atraviesan la membrana externa de bacterias Gram negativas a través de los canales de porinas. Tanto su tamaño como su topología son compatibles para el ingreso de éstas a través de las porinas OmpF y OmpC (Giraud y cols., 2000). Se ha sugerido que las moléculas más hidrofóbicas podrían estimular por sí mismas su difusión a través de la capa de fosfolípidos, gracias a su capacidad de quelación del magnesio, que se halla en la membrana externa estabilizando el lipopolisacárido (Nikaido y Thanassi, 1993; Giraud y cols., 2000).

Se han descrito numerosos mutantes de permeabilidad que modifican la sensibilidad a quinolonas hidrofílicas, aunque la resistencia de dichos mutantes no es muy elevada. Se reporta que mutaciones en los genes *ompF* y *ompC* dan lugar a una escasa o nula resistencia y éstas se caracterizan por presentar variaciones en las concentraciones de las porinas OmpF y OmpC. Paralelamente, mutaciones en los genes *nfxB*, *norB*, *norC*, *nfxC* y *cfxB* parecen estar asociados a una menor permeabilidad a



través de los canales OmpF, así como a una menor permeabilidad a otras moléculas como tetraciclina, cloranfenicol o algunos lactámicos (Wolfson y Hooper, 1989). Por otro lado, mutaciones en los loci *nfx*, *mar*, *cfx* y *sox*, involucrados en la respuesta frente a condiciones medio ambientales adversas, dan lugar a resistencia frente a muchas moléculas diferentes, incluidas las quinolonas.

También se ha postulado que el estado energético de las membranas estaría interviniendo en el transporte de moléculas de quinolonas y por tanto afectando la resistencia. Así pues, la concentración intracelular de norfloxacin es la misma en células salvajes en presencia de desacopladores del transporte electrónico que en mutantes *nfxB*, *cfxB* o *marA* (Cohen y cols., 1989). No existen demasiados resultados concluyentes respecto a las mutaciones que afectan a la membrana externa y se dispone aún de menor información sobre alteraciones en la membrana citoplasmática que pudieran afectar el transporte de dichos compuestos.

Por otro lado, las cepas mutantes *Mar* (múltiple antibiotic resistant) expresan resistencias condicionadas por cromosomas frente a una gran variedad de antibióticos hidrofóbicos e hidrofílicos estructuralmente no relacionados, entre ellos las quinolonas. Esto es consecuencia de que las mutaciones en *marA* reducen la permeabilidad al disminuir la expresión de la OmpF. Las mutaciones que afectan a la permeabilidad confieren bajos grados de resistencia a las quinolonas (aumento de 2 a 4 diluciones log<sub>2</sub> de la CMI), pero habitualmente se producen resistencias cruzadas con otros antibióticos estructuralmente no relacionados (Cohen y cols., 1988; Cohen y cols., 1989).

### **2.8.3.- RESISTENCIA POR LOS SISTEMAS DE EFLUJO.**

Los sistemas de eflujo se caracterizan por expulsar al exterior celular un considerable número de moléculas, como antibióticos de distintas familias estructurales y en muchos casos antisépticos, biocidas, compuestos aromáticos y detergentes. Entre sus características está su inespecificidad y su ubicuidad, habiéndose descrito en todas las especies bacterianas analizadas (así como en células eucariotas). Una única célula bacteriana puede tener hasta 20 sistemas de eflujo distintos (Sánchez Díaz, 2003).

Uno de los más conocidos es el sistema de transporte denominado AcrAB de *Escherichia coli*, el cual está codificado en los genes *acrAB* y parece tener como función fisiológica la protección de las células frente a sales biliares y ácidos grasos que

son tóxicos habituales de su entorno fisiológico. Este sistema se sitúa en la membrana interna de los microorganismos y es un proceso inespecífico y dependiente de energía, ligado a un gradiente de protones. El sistema AcrAB está compuesto por el transportador AcrB y la proteína periplasmática accesoria AcrA. Se cree que AcrA, de forma alargada, aproxima la membrana externa e interna, formando un trímero que interacciona con el monómero AcrB; bombeando así una gran variedad de sustancias, incluida las quinolonas, presumiblemente a través del canal TolC (Nikaido, 1996; Nikaido y Zgurskaya, 2001)

Es importante destacar que la expresión de los genes *acrAB* aumentan de forma considerable en los mutantes Mar, lo que implica que dicho locus en *Escherichia coli*, no solo regula la expresión de la porina OmpF, sino también la expresión de la bomba AcrAB. Mutantes Mar presentan resistencias a quinolonas, debido a una disminución en la permeabilidad de la membrana externa y a una importante expulsión activa a través de la membrana interna (Ma y cols., 1995; Zeller y cols., 1997; Giraud y cols., 2000; Weber y Piddock, 2003).

Otro mecanismo de expulsión descrito es el de *Streptococcus pneumoniae* (Brenwald y cols., 1998). La bomba de expulsión es la PmrA (pneumococcal multidrug resistance protein). Se ha demostrado que más del 50% de las cepas resistentes a ciprofloxacino presentaban una expulsión aumentada (Piddock, 1999).

Otros transportadores similares son: el codificado por el gen *mexABoprK* de *Pseudomonas aeruginosa* relacionado con la resistencia de esta bacteria a ciprofloxacino y ácido nalidíxico (Poole y cols., 1993). También en bacterias Gram positivas se han identificado bombas de expulsión: Bmr en *Bacillus subtilis*, NorA en *Staphylococcus aureus* (Neyfak, 1992; Neyfak y cols., 1991). A continuación se muestran diferentes bombas de expulsión en especies Gram positivas (Tabla 5).

ESPECIE	BOMBAS DE EXPULSIÓN
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nor A, Nor B, MsrA, QacA,B, TetK
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	PmrA, Mef E
<i>Listeria monocytogenes</i>	MdrL, Lde
<i>Bacillus subtilis</i>	Bmr, Blt, EbrAB
<i>Enterococcus faecalis</i>	Lsa, EmeA
<i>Streptococcus pyogenes</i>	MefA
<i>Lactococcus lactis</i>	LmrA, LmrP
<i>Corynebacterium spp</i>	LmrB

**Tabla 5.- Principales bombas de expulsión en Gram positivos.**

#### **2.8.4.- OTROS MECANISMOS DE RESISTENCIA.**

##### ❖ RESISTENCIA MEDIADA POR PLÁSMIDOS:

No se han descrito mecanismos de resistencia mediados por plásmidos en bacterias Gram positivas, mientras que sí se ha hecho en bacterias Gram negativas tales como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Este mecanismo está mediado por un gen plasmídico llamado qnr (Rodríguez-Martínez y cols., 2003; Tran y Jacoby, 2002; Wang y cols., 2003). Este gen se detectó en un plásmido conjugativo, en una estructura tipo integrón, en una cepa de *Escherichia coli* de origen urinario (Martínez-Martínez y cols., 1998).

Este mecanismo de resistencia aumenta la resistencia de las cepas de 4 a 8 veces y complementa a otros mecanismos de resistencia como la adquisición de mutaciones o a los sistemas de expulsión activa. El mecanismo de acción de Qnr se basa en la unión de esta proteína a la ADN-girasa; esta unión no requiere la presencia del complejo ADN-girasa-Quinolona-ADN para su formación. Se postula que la formación del complejo Qnr-ADN-girasa ocurre antes del bloqueo de la ADN-girasa por parte de la

quinolona. Además, se ha observado una reducción en la formación del complejo en presencia de Qnr (Rodríguez-Martínez, 2005; Tran y cols., 2005).

Recientemente, Hata y cols. (2005) describieron otro gen de resistencia, *qnrS*, contenido en un plásmido transferible en una *Shigella flexneri*. Esta nueva proteína, QnrS, presenta un 59% de aminoácidos idénticos a Qnr. También en *Vibrio parahaemolyticus* se ha descrito una proteína homóloga a Qnr llamada VPA0095 (Nazic y cols., 2005).

## 2.9.- INTEGRACIÓN FARMACOCINÉTICA-FARMACODINÁMICA.

La relación entre la farmacocinética y la actividad microbiológica (farmacodinámica) de las fluoroquinolonas puede ser usada con el fin de determinar la dosis necesaria para lograr el resultado clínico deseado. Desde esta perspectiva (PK/PD), las quinolonas son antibióticos concentración dependiente (Zhanel, 2001), aunque existan excepciones a esta regla general ya que según describe Cester y cols., 1996, las fluorquinolonas pueden actuar como antibióticos concentración dependiente frente a bacterias Gram negativas, y tiempo dependiente o una combinación de ambos efectos frente a Gram positivas.

Los parámetros que mejor se relacionan con la eficacia de un antibiótico son las relaciones  $AUC_{0-24h} / CMI$  (área bajo la curva/concentración mínima inhibitoria), y  $C_{max} / CMI$  (concentración máxima/concentración mínima inhibitoria), ya que a priori se consigue un mayor efecto bactericida (mayor eliminación de bacterias) cuanto mayor es la concentración en contacto con esas bacterias.

La ratio  $C_{max} / CMI$  es particularmente importante en presencia de bacterias con CMIs elevadas o en presencia de bacterias con una capacidad de proliferación elevada (Craig y Dalhoff, 1998). En este último caso, las bacterias tienen una mayor probabilidad de sufrir una mutación, que podría conducir a la creación de una población bacteriana menos susceptible. En los procesos infecciosos donde hay una alta carga bacteriana, el proceso de mutación está aumentado simplemente por las leyes de la probabilidad (Craig y Dalhoff, 1998; Drusano y cols., 1993). Diversas investigaciones han demostrado que las fluoroquinolonas con un ratio  $C_{max} / CMI_{90} > 3$  provocan una reducción en el recuento bacteriano de un 99%, mientras si la ratio  $C_{max} / CMI_{90} \geq 8$ ,

previenen la aparición de microorganismos resistentes (Craig, 1998). Estos ratios aseguran un incremento de la mortalidad de organismos sensibles, un aumento de la mortalidad o inhibición de bacterias con altos valores de CMI y, por tanto, un menor número de microorganismos que facilita la acción de las defensas orgánicas cuando las concentraciones sistémicas del antibiótico son mínimas. Altas concentraciones de antibiótico, en relación a la CMI de los microorganismos, también contribuyen a incrementar el efecto post-antibiótico (EPA). El EPA *in vivo*, es mayor que *in vitro* para la mayoría de los microorganismos, a excepción de los estreptococos  $\beta$ -hemolíticos. Por consiguiente, la adecuación de la ratio  $C_{\max}/CMI_{90}$  será fundamental para retrasar el recrecimiento de patógenos, por varias horas. El resultado de usar este tipo de regímenes de dosificación es que existirá una menor cantidad de microorganismos capaces de producir subpoblaciones resistentes.

A pesar de que existe una gran cantidad de información sugiriendo que las fluoroquinolonas son altamente efectivas en presencia de un alto ratio  $C_{\max}/CMI_{90}$ , se han observado excepciones que rompen la regla. Por ejemplo, en el caso de *Bacillus anthracis*, ciertos estudios han sugerido que la ratio AUC/CMI es mejor para predecir el éxito que la ratio  $C_{\max}/CMI_{90}$  (Deziel y cols., 2001). También hay que tener en cuenta el tiempo transcurrido entre dosis, si este tiempo es superior a 24 horas (como en el caso del gemifloxacino), la efectividad puede depender del tiempo en que la concentración de fármaco excede de la CMI ( $T > CMI$ ) (MacGowan y cols., 001).

Cuando no es posible una ratio  $C_{\max}/CMI_{90} > 8$ , la importancia del tiempo de exposición al fármaco se ve aumentada, y la eficacia dependerá de la ratio AUC/CMI (Owens y Ambrose, 2002). La ratio AUC/CMI también sirve como índice PK/PD cuando la infección está provocada por bacterias de crecimiento lento, cuando existe poco o nulo EPA, o cuando las CMI de los microorganismos son bajas.

Una gran cantidad de estudios en modelos animales (basados en infecciones causadas por Gram negativos) han mostrado que un valor de AUC/CMI de 100 o mayor, ha sido necesario para asegurar su supervivencia (Craig, 1998; Craig y Dalhoff, 1998; Thomas y cols., 1998). Este valor de 100, si lo trasladamos a concentración de fármaco, equivale aproximadamente a 4 veces la CMI a lo largo de un intervalo de 24 horas de dosificación (concentraciones *in vitro* de difloxacino necesarias para asegurar el efecto bactericida contra cepas aisladas en perros que padecen infección recurrente del tracto urinario) (Walker, 2000). La ratio AUC/CMI tiene una gran importancia en el

resultado clínico observado con moxifloxacino (Vesga y cols., 1996), ciprofloxacino (Forrest y cols., 1993) y grepafloxacino (Forrest y cols., 1997).

Diversos estudios han publicado que los valores de AUC/CMI necesarios para asegurar un resultado terapéutico exitoso, pueden ser diferentes para infecciones causadas por Gram negativos y Gram positivos:

- Para organismos Gram negativos, el valor de AUC/CMI necesario para asegurar la cura bacteriana y la prevención de cepas resistentes es de 100-125 (Forrest y cols., 1993).
- En contraste, la ratio AUC/CMI para bacterias Gram positivas es considerablemente menor, aproximadamente 30-50 (Ibrahim y cols., 2002; Preston y cols., 1998; Wright y cols., 2000).

Investigaciones con fluoroquinolonas de tercera generación, han sugerido que en microorganismos Gram positivos los valores de AUC/CMI son substancialmente menores cuando  $C_{\max}/CMI \geq 10$  (Nightingale y cols., 2000). Además, Lees y Shojaee Aliabadi (2002a) han realizado investigaciones de la ratio AUC/CMI obteniendo un efecto bacteriostático, bactericida y eliminación total bacteriana con varias fluoroquinolonas. En todos los casos, este índice fue menor de 100-125 para terneros, ovejas, cabras y camellos.

Por tanto, la integración PK/PD es una guía para obtener estimaciones iniciales de dosis, que son necesarias para alcanzar la respuesta clínica deseada, modificar un régimen de dosificación en pacientes que tienen alterado el aclaramiento, o para calcular una dosis basándose en la información de la susceptibilidad de organismos patógenos. Sin embargo, no es correcto usar estos índices para asegurar la efectividad de un producto o para comparar productos. Hay numerosos factores farmacocinéticos y farmacodinámicos que no pueden predecirse. Por ejemplo, la concentración sérica de un fármaco no necesariamente refleja la capacidad de este para penetrar en el sitio de infección o en el interior de la célula bacteriana (MacGowan y Bowker, 2002).

La actividad bactericida de un antibiótico puede alterarse por modificaciones en la relación pH intracelular/pKa del fármaco, contenido en oxígeno, y actividad enzimática intracelular (Butts, 1994). Además, la potencia de un antibiótico es frecuentemente considerada en términos de CMI, que es un efecto estático sobre el crecimiento bacteriano. La CMI de un antibiótico puede no ser igual que su

concentración bactericida mínima (CBM ó MBC). Desde el momento que los valores de CMI y CBM de un antibiótico son estimados *in vitro*, estos no reflejan la capacidad antimicrobiana *in vivo* por numerosos factores (Craig y Dalhoff, 1998). Mientras que se ha demostrado que algunas fluoroquinolonas tienen actividad *in vitro* e *in vivo* contra bacterias en fase estacionaria (por ejemplo, ofloxacino y ciprofloxacino), otras no (por ejemplo, norfloxacino) (Lode y cols., 1998). También tenemos que tener en cuenta que una vez que hemos alcanzado un determinado valor de la ratio AUC/CMI o  $C_{max}/CMI$  para un determinado antibiótico, el incremento de estas ratios no aumenta su eficacia clínica, ya que elevadas concentraciones de fluoroquinolonas inhiben la síntesis de ARN y la síntesis proteica, provocando una disminución en su actividad bactericida (Lode y cols., 1998).

Últimamente, diversos estudios indican que la integridad de la respuesta inmune del animal, determinará la efectividad de la integración PK/PD (Andes y Craig, 2002; Toutain y cols., 2002).

## **2.10.- UTILIZACIÓN CLÍNICA DE LAS FLUORQUINOLONAS.**

Las indicaciones clínicas de las quinolonas han ido variando al mismo ritmo que iban evolucionando, mejorando su espectro de actividad y sus propiedades farmacocinéticas (Figura 10).

Una de las principales indicaciones de las quinolonas fueron las infecciones urinarias, debido a su actividad frente a enterobacterias, las principales causantes de este tipo de infecciones, así como a que debido a su eliminación por vía renal acumulan grandes concentraciones de antibiótico en el tracto genitourinario. De este modo las quinolonas se usan de manera frecuente para el tratamiento de cistitis, prostatitis o pielonefritis, siendo el norfloxacino la quinolona más comúnmente utilizada, aunque otras quinolonas como el ciprofloxacino o el ofloxacino entre otras pueden ser utilizadas (Alos, 2003; Hooper y Wolfson, 1985; Oliphant y Green, 2002).

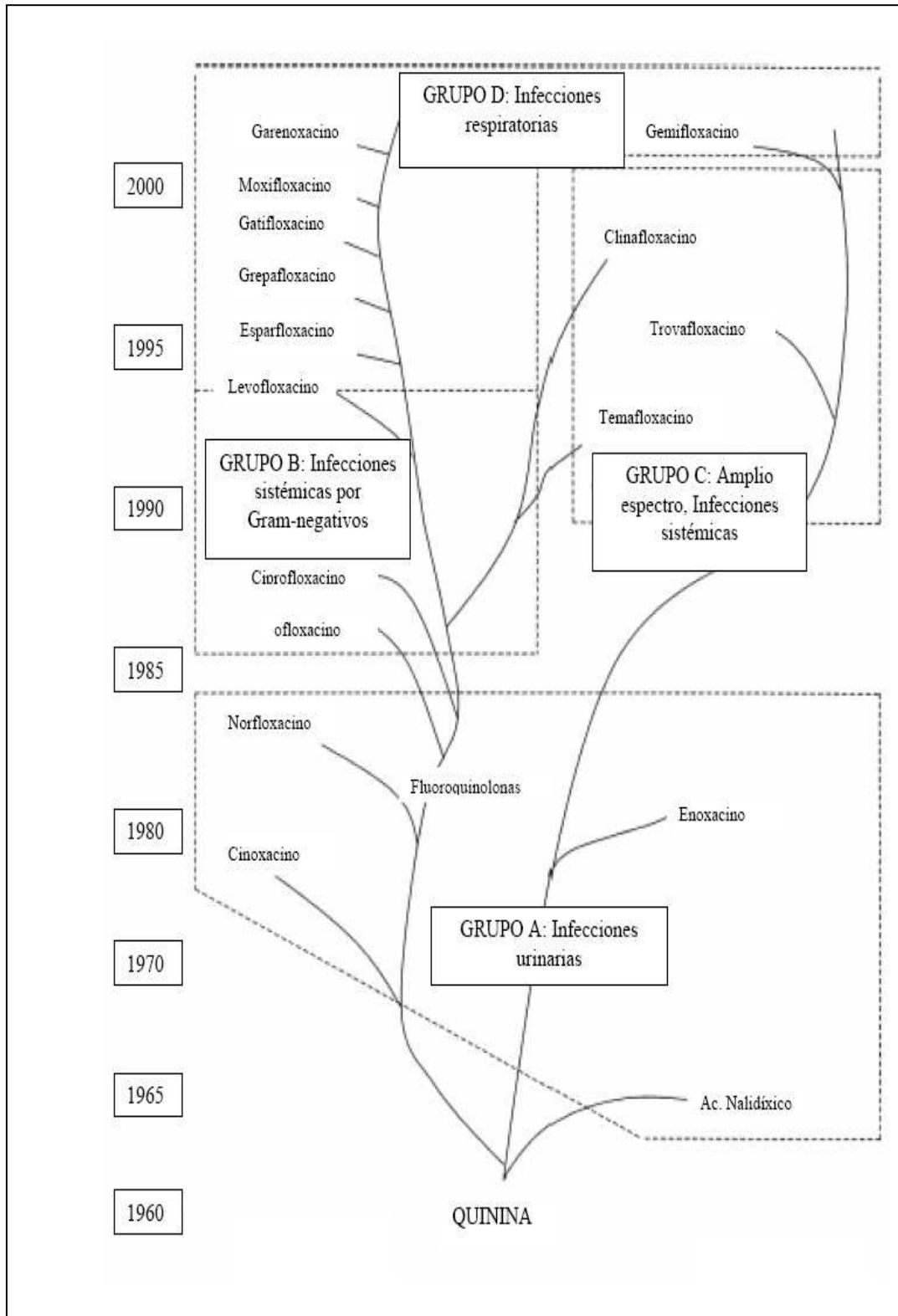


Figura 10.- Relación entre el año de introducción de las quinolonas y su uso en clínica.



Otras indicaciones de las quinolonas son las infecciones gastrointestinales, y abdominales. Éstas presentan una muy buena actividad sobre los principales patógenos, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*, o *Campylobacter* spp. Por este motivo algunos autores proponen el uso de estos antimicrobianos como profilaxis para viajeros a países en vías de desarrollo, con el fin de evitar la aparición de la llamada “diarrea del viajero” (Tellier y Keystone, 1992).

También se han usado las quinolonas como descontaminantes del aparato digestivo en pacientes sometidos a transplantes con el fin de evitar posteriores infecciones, así como en protocolos de prevención de peritonitis bacteriana espontánea en pacientes cirróticos (Bauer y cols., 2002; Hooper y Wolfson, 1985).

Con la llegada de las nuevas fluorquinolonas, sus indicaciones se fueron diversificando, así pues, actualmente las quinolonas se utilizan en el tratamiento de infecciones sistémicas graves. Debido al amplio espectro de acción, su administración oral y su tolerabilidad se utilizan en infecciones óseas que necesitan un tratamiento prolongado (Alos, 2003).

Una de las indicaciones de las modernas quinolonas son las infecciones respiratorias, especialmente para el tratamiento de la neumonía ya sea nosocomial o adquirida en la comunidad. Los patógenos más comunes causantes de este tipo de infección (especialmente los neumococos) serían susceptibles al tratamiento con estos antibióticos (Alos, 2003). Aunque en los últimos años han empezado a surgir cepas resistentes (Davidson y cols., 2002).

Las quinolonas utilizadas en medicina veterinaria son (Tabla 6) (Walker, 2000; Wetzstein y De Jong, 2005; AGEMED, 2009; EMEA, 2009):

FLUOROQUINOLONA	ESPECIES ANIMALES
Flumequina	Salmón, trucha, gallinas, perros, cerdos, terneros, corderos
Ácido oxolínico	Trucha
Enrofloxacino	Perros, gatos, conejos, pollos, pavos, terneros, caballos, cerdos, bóvidos.
Orbifloxacino	Perros y gatos.
Ibafloxacino	Perros y gatos.
Difloxacino	Perros, gatos, pollos y pavos.
Danofloxacino	Gatos y cerdos.
Marbofloxacino	Perros, gatos, cerdos, terneros y bovino.
Sarafloxacino	Pollos, pavos y salmón.
Pradofloxacino (en fase de desarrollo)	Perros, gatos.

**Tabla 6.** Relación de quinolonas y su utilización en diversas especies animales.

A. VACUNO, OVINO Y CAPRINO:

Las fluoroquinolonas son activas frente a microorganismos asociados a infecciones respiratorias agudas en ganado, caprino y ovino, causadas por *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* y *Haemophilus somnus*. Otras indicaciones pueden ser mastitis, metritis, conjuntivitis e infecciones causadas por *Mycoplasma* spp., como la neumonía y la otitis media. Sin embargo, en Estados Unidos, sólo ha sido aprobado el uso de fluoroquinolonas en neumonía aguda en ganado vacuno (Walker, 2000).

B. CERDO:

Las fluoroquinolonas son activas en el tratamiento de infecciones causadas por *Mycoplasma hyopneumoniae*, y se podrían utilizar en la prevención y tratamiento de infecciones por patógenos tales como *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Sin embargo, su uso en cerdos está prohibido en Estados Unidos y en otros países (Walker, 2000).

C. CABALLO:

A causa de los efectos adversos que las fluoroquinolonas pueden ejercer sobre las articulaciones como la erosión del cartílago, su uso no está recomendado en potros menores de 3 años. Si bien, la posibilidad de administrar estos quimioterápicos vía oral, convierte a este grupo, en antibióticos de primera elección en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias Gram negativas en caballos. En la pleuritis crónica causada por *Escherichia coli*, se ha utilizado enrofloxacin con éxito clínico. En estos animales, también ha sido descrita la seguridad y eficacia de orbifloxacin (Walker, 2000; USP Drug information, 2003).

D. PERRO Y GATO:

En este grupo de animales, las fluoroquinolonas pueden ser utilizadas en infecciones del tracto urinario (como prostatitis) e infecciones respiratorias, del tracto superior tales como rinitis y del tracto respiratorio como neumonías, incluyendo las causadas por *Bordetella bronchiseptica*. Además, también son ampliamente utilizadas en pioderma profunda y superficial, en otitis media y externa; en infecciones de heridas, en peritonitis asociadas a metronidazol, en caso de infecciones por microorganismos anaerobios, en osteomielitis causadas por Gram negativos aerobios y en infecciones causadas por micoplasmas, como conjuntivitis e infecciones de tejidos blandos. Como en otras especies, estos antimicrobianos no deben emplearse en animales jóvenes, menores de 8 meses y en caso de perros de razas grandes, su uso no está recomendado hasta los 12 meses de edad (Walker, 2000).

En un ensayo clínico se estudió la eficacia de rifampicina más ciprofloxacino en el tratamiento de la brucelosis en perros, los resultados pusieron de manifiesto que esta

combinación es tan eficaz como el régimen estándar empleado en medicina humana, compuesto por rifampicina y doxiciclina (USP Drug information, 2003).

En infecciones causadas por micobacterias en gatos se han utilizado enrofloxacino y ciprofloxacino. Así, frente a *Mycobacterium lepraemurium*, micobacteria no tuberculosa, enrofloxacino ha resultado eficaz en las manifestaciones cutáneas causadas por este microorganismo (USP Drug information, 2003).

#### E. AVES DE CORRAL:

En las explotaciones de aves de corral, se necesitan agentes antimicrobianos con capacidad bactericida rápida frente a los patógenos que se aíslan frecuentemente, entre los que destacan *Escherichia coli*, que causa graves septicemias y celulitis, *Salmonella* spp., *Haemophilus paragallinarum* y *Pasteurella multocida*. Sarafloxacino y enrofloxacino han sido desarrollados para el uso en aves de corral y las indicaciones aprobadas en Estados Unidos comprenden el tratamiento de las infecciones causadas por *Escherichia coli* en pollos y pavos. Enrofloxacino, además, también ha sido aprobado en el tratamiento de las infecciones causadas por *Pasteurella multocida* en pavos (Walker, 2000; USP Drug information, 2003).

#### F. CONEJO:

En el conejo, el tratamiento con fluoroquinolonas está indicado en distintos procesos infecciosos que afectan a piel y tejido subcutáneo (dermatitis, abscesos y mastitis causadas por patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* spp., *Pasteurella multocida* y *Pasteurella* spp.), tracto respiratorio (neumonía, infecciones en el tracto respiratorio superior) y conjuntivitis producidas por *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, aparato gastrointestinal (diarrea, colibacilosis ocasionadas por agentes como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Pseudomonas* spp.), sistema nervioso central (nistagmus, tortícolis causadas por *Pasteurella multocida*), aparato urogenital (cistitis originada por *Escherichia coli* o *Pseudomonas* spp.) y en procesos infecciosos en los que se aísla *Listeria monocytogenes* o *Pasteurella multocida* y que cursan con somnolencia, anorexia, pirexia y septicemia (Burgmann, 2000).

En la USP Drug information, 2003, se recoge que en conejos con pasteurellosis, enrofloxacino vía parenteral ha mostrado que puede resolver los signos clínicos en los animales infectados, aunque no pudo erradicar al patógeno causante de la infección.

Por otro lado, las fluoroquinolonas son efectivas en el tratamiento de las queratitis oculares en conejo causadas por *Staphylococcus aureus*, con daño tisular e inflamación por la acción de toxinas secretadas por dicho microorganismo. Dajcs y cols. (2004), concluyen en un estudio realizado en conejos que la eficacia de moxifloxacino en el tratamiento de queratitis causadas por *Staphylococcus aureus* es superior a la encontrada con levofloxacino y ciprofloxacino.

#### G. OTROS:

En Estados Unidos aunque la seguridad y la eficacia de enrofloxacino no ha sido establecida, sí que se han realizado recomendaciones acerca de la dosis, basadas en datos farmacocinéticos, para el tratamiento de infecciones por patógenos susceptibles, en las siguientes especies: avutarda, camello, pato, llama, loro gris africano, pitón, emú, oryx y red pacu (Lewbart y cols., 1997; USP Drug information, 2003).

### **2.11.- TOXICIDAD Y EFECTOS ADVERSOS.**

Los efectos adversos de las quinolonas, con excepciones, no son consecuencias graves si los comparamos con los beneficios que tienen (Sárközy, 2001). Igualmente, con algunas excepciones (temafloxacino, trovafloxacino, grepafloxacino), las fluorquinolonas son consideradas seguras y bien toleradas (Stahlmann, 1990). Generalmente, la toxicidad depende mayormente de la dosis y la especie animal de destino (Bertino y Fish, 2000).

Se han informado efectos tóxicos de las quinolonas sobre el sistema nervioso, cardiovascular y gastrointestinal del hombre y de los animales, así como condrotoxicidad, toxicidad sobre la reproducción y el desarrollo, genotoxicidad, cardiogénesis y fototoxicidad (Otero y cols., 2001b).

Las fluorquinolonas son comparables con otras clases de antibióticos en términos de frecuencia y gravedad de los efectos adversos. En estudios clínicos

comparativos, la frecuencia global de efectos adversos para diferentes fluorquinolonas es entre 3-40%. En otros antibióticos: 6-35% en penicilinas, 39% en eritromicina, 12-39% en cefalosporinas etc. (Wolfson y Hooper, 1991; Norrby, 1991).

### **2.11.1.- RELACIÓN ENTRE ESTRUCTURA Y EFECTOS ADVERSOS.**

Cada fluorquinolona tiende a producir ciertos efectos adversos, diferencias que pueden ser explicadas por las características estructurales (Domagala, 1994). Las alteraciones digestivas y la artropatía no parecen tener relación con las modificaciones químicas de las distintas moléculas. Sin embargo, la cristaluria, las alteraciones neurológicas y la fototoxicidad, sí están muy relacionadas con estas modificaciones (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

A continuación se detallan los diferentes efectos adversos según las modificaciones en las diferentes posiciones de la estructura básica o núcleo de las quinolonas (figura 1, página 11):

- **Sustituciones en posición 1.**

Los radicales unidos al nitrógeno de esta posición van a influir en la genotoxicidad de las quinolonas. La presencia de un ciclopropilo implica moléculas con mayor citotoxicidad, seguidas de aquellas que presentan un tert-butilo, un 2,4-dihidrofenoilo y un grupo etilo (Lipsky y Barker, 1999).

- **Sustituciones en posición 2 y 6.**

No se han descrito efectos secundarios relacionados con el radical en posición 2 ni con el flúor en posición 6 (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

- **Sustituciones en posición 3 y 4.**

El grupo carboxílico de la posición 3 y el grupo oxo en posición 4 producen quelación de algunos cationes, tales como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$ , tendiendo a disminuir su absorción oral y por tanto produciendo fracasos en el tratamiento (Lomaestro y Bailie, 1991).

▪ **Sustituciones en posición 5.**

Los radicales presentes en esta posición van a afectar en la inducción de fototoxicidad y genotoxicidad. Concretamente, la fototoxicidad se produce cuando la quinolona se excita con luz ultravioleta, la cual, en ocasiones libera radicales libres tóxicos para las células. Aumentan la fototoxicidad los grupos metilo (grefloxacin), seguido de un hidrógeno (ciprofloxacino) y grupo amino (sparfloxacino), interviniendo de una manera importante el sustituyente en posición C8 (Domagala, 1994).

▪ **Sustituciones en posición 7.**

El radical en posición 7 está relacionado con los efectos directos de las quinolonas sobre el SNC, debido a su unión con los receptores gabaérgicos cerebrales, bloqueando la unión del GABA. Los efectos más frecuentes son: cefaleas, alteraciones del ritmo del sueño, alteraciones del humor, vértigo y convulsiones (Wolfsn y Hooper, 1991; Domagala, 1994).

La presencia de moléculas de menor tamaño en C7, tales como piperacinas (ciprofloxacino, norfloxacino) y pirrolidinas (tosufloxacino, clinafloxacino) son las que más antagonizan con el GABA. Estas moléculas sustituidas formarían radicales voluminosos y tendrán menor antagonismo con el GABA (Brysker y Chantot, 1995; Domagala, 1994).

Otros efectos adversos relacionados con las sustituciones en esta posición son:

- Genotoxicidad: el anillo pirrolidinil es más citotóxico que el piperacínil, y éstos más que los anillos con alguna sustitución en su estructura (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).
- Alteraciones dermatológicas: la presencia de un grupo alquilo en el anillo piperacínil en el C7 está relacionado con eritema, urticaria, prurito, erupción (Norrby, 1991).

▪ **Sustituciones en posición 8.**

Los cambios en X8 están relacionados con la producción de genotoxicidad y fundamentalmente con la fototoxicidad (Lipsky y Barker, 1999):

- El radical más genotóxico es C-F, seguido en orden por: C-Cl, C-OCH<sub>3</sub>, N, C-CF<sub>3</sub> y C-H.
- La fototoxicidad se ha demostrado en las quinolonas que tienen un grupo halogenado en C8, como el flúor (lomefloxacino, sparfloxacino y fleroxacino). Esta fototoxicidad disminuye con otros radicales como el grupo metoxi.

En orden decreciente de toxicidad en función del radical en esta posición: C-F ≥ C-Cl > N > CH > CF<sub>3</sub> > C-OR.

- **Otros efectos adversos relacionados con la estructura.**

Cristaluria y nefrotoxicidad: grupos alquilo en la posición C7 (CF, CCl, CCF<sub>3</sub>) como en C8 mejora la solubilidad en agua. En cambio, radicales con grupos amino favorece la cristaluria (Rosen y cols., 1988).

### **2.11.2.- EFECTOS ADVERSOS ESPECÍFICOS SEGÚN ÓRGANO O SISTEMA AFECTADO.**

- **Efectos gastrointestinales.**

Se cree que pueden estar causados por una combinación directa de irritación gastrointestinal y efectos relacionados con el sistema nervioso central (SNC) (Domagala, 1994). La estimación de efectos gastrointestinales es de 2-20% siendo los más comunes: náuseas, anorexia y dispepsia. Otros efectos como dolor abdominal, vómitos y diarrea son menos frecuentes pero pueden ser de mayor gravedad (Adam y Von Rosenstield, 1994; Ball y Tillotson, 1995).

Se han asociado colitis por *Clostridium difficile* con fluorquinolonas, quizás por el efecto de algunas sobre la flora gastrointestinal anaeróbica. Fluorquinolonas como trovafloxacino, moxifloxacino y gatifloxacino se han visto asociadas con un mayor riesgo de producir esta colitis (Wolfosn y Hooper, 1991; Nord, 1995).



- **Efectos sobre el Sistema Nervioso Central (SNC).**

Los efectos sobre el SNC se encuentran en segunda posición en cuanto a producción de efectos secundarios. Su frecuencia es del 1-2%, llegando incluso al 11% para algunos autores (Stahlmann, 1990; Lipsky y Baker, 1999).

Los efectos más frecuentes son: dolor de cabeza, mareos y somnolencia. Otros efectos menos frecuentes han sido notificados: inquietud, insomnio, trastornos del sueño, agitación y cambios en la visión.

Convulsiones y ataques raramente han sido informados, siendo mas frecuentes en pacientes con factores predisponentes a padecerlas (trauma craneal, anoxia, convulsiones, alteraciones metabólicas, terapia con medicamentos que interactúan tales como teofilina y antiinflamatorios no esteroideos, etc.) (Wolfson y Hooper, 1991; Stahlmann, 1990; Lipsky y Baker, 1999).

La fluorquinolonas que producen más efectos secundarios sobre el SNC se describen a continuación, en orden de importancia: trovafloxacino > norfloxacino, gatifloxacino, moxifloxacino > sparfloxacino > ciprofloxacino > ofloxacino > levofloxacino (Fish, 2001).

- **Efectos dermatológicos.**

Se producen en una tasa global de 0,5-3%, siendo el efecto más frecuente las reacciones fototóxicas, las cuales pueden aparecer en apenas unas horas después de la administración de la quinolona y con la suficiente exposición a radiación ultravioleta (UV). Las reacciones de fotosensibilidad requieren exposición previa al agente y aparecen al cabo de 1 o 2 horas. Éstas últimas reacciones son raras con las fluorquinolonas, (Domagala, 1994).

Las manifestaciones clínica fototóxicas van desde un leve eritema en las áreas expuestas al sol hasta erupciones graves, y pueden ser causadas tanto por la exposición directa e indirecta a la luz del sol, como por la exposición a lámparas UV (Lipsky y Baker, 1999; Domagala, 1994). Las reacciones generalmente disminuyen tras suspender la terapia, pero pueden aparecer hasta 3 semanas después de la suspensión del antibiótico. Esto puede ocurrir con aquellas fluorquinolonas que tienen alta penetración en tejidos o una larga semivida de eliminación (Domagala, 1994).

De mayor a menor gravedad de producir fototoxicidad, las fluorquinolonas se clasifican de la siguiente manera: lomefloxacino > sparfloxacino > ciprofloxacino > norfloxacino, ofloxacino, levofloxacino > trovafloxacino, moxifloxacino, gatifloxacino (Fish, 2001).

Otras reacciones adversas dermatológicas poco frecuentes causadas por fluorquinolonas son: erupción cutánea, prurito, edema, hiperpigmentación, dermatitis, vasculitis, eritema multiforme y púrpura de Henoch-Schönlein (Fish, 2001)

- **Efectos hepáticos.**

Puede ocurrir con una frecuencia del 2-3%. Las reacciones más frecuentes son elevación de enzimas hepáticas como alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa y fosfatasa alcalina. También se han dado casos de aumento de la bilirrubina total. Estas elevaciones son leves y reversibles al interrumpir el medicamento. Trovafloxacino es una fluorquinolona con una hepatotoxicidad conocida clínicamente significativa (Wolfson y Hooper, 1991; Lietman, 1995; Lipsky y Baker, 1999).

- **Efectos sobre el tracto urinario.**

Los efectos nefrotóxicos de las fluorquinolonas son poco frecuentes, existiendo casos de hematuria, nefritis intersticial e insuficiencia renal aguda (Stahlmann, 1990; Domagala, 1994; Allon y cols., 1990).

La frecuencia de elevación de los niveles de creatinina sérica durante la terapia con fluorquinolonas es 0,2-1,3%, y la frecuencia de azotemia es similar (Lietman, 1995; Wolfson y Hooper, 1991).

En animales se han informado casos de cristaluria. Esto es debido a la disminución de la solubilidad de las fluorquinolonas en pH fisiológico o alcalino, debido a su naturaleza química como zwitterión. Esta cristaluria aparece en la orina ácida normal de los seres humanos de forma rara (Domagala, 1994; Bryskier y Chantot, 1995).

- **Efectos oculares.**

El ácido nalidíxico y pefloxacino se asocian con daño ocular cuando se administran en animales a dosis altas. Las manifestaciones oculares incluyen: cataratas, opacidades lenticulares punteadas, cambios morfológicos de la retina y alteración de la agudeza visual (Schentag y Scully, 1999).

- **Efectos musculoesqueléticos.**

Se han descrito casos de artropatías en aproximadamente un 1% de los pacientes tratados con fluorquinolonas (Hayem y Carbon, 1995). Las manifestaciones más comunes fueron: dolores articulares, rigidez e hinchazón de las articulaciones, especialmente las rodillas. Se han observado durante los primeros días de tratamiento y principalmente en pacientes menores de 30 años. Estos síntomas suelen desaparecer en días o semanas después de la suspensión del fármaco (Fish, 2001).

El mecanismo por el que se produce ese daño articular, se sospecha que sea una disfunción mitocondrial generada por la inhibición de la síntesis de ADN y de la actividad del glucosaminoglicano en el cartílago articular inmaduro (Fish, 2001).

No se recomienda el uso de enrofloxacino en potros, ya que puede ocasionar artropatías y defectos de los cartílagos (Vancutsem y cols., 1990; Langston y cols., 1996). Tampoco se recomienda su administración en perros menores de 1 año, ni en gatos menores de 8 meses (McKellar, 1996).

Tendinitis y rupturas espontáneas de tendón han sido descritas en personas, durante o tras una terapia con quinolonas. Pueden ocurrir de manera unilateral o bilateral (Lipsky y Baker, 1999).

El riesgo de ruptura del tendón de Aquiles fue 4 veces superior entre las personas que recibieron una fluorquinolona y las que no la recibieron. Generalmente, aparece en personas mayores de 50 años y en tratamiento concomitante con corticoesteroides (Pierfitte y cols., 1995; Szarfman y cols., 1995). Los síntomas pueden ocurrir dentro de 2-42 días después de iniciar el tratamiento y suelen resolver dentro de 1-2 meses después de la suspensión del antibiótico (Fish, 2001).

- **Efectos cardiovasculares.**

La administración de fluorquinolonas, principalmente sparfloxacino y grepafloxacino, ha sido asociado con una prolongación en el electrocardiograma del intervalo QT corregido (Fish, 2001).

Los efectos de las fluoroquinolonas en el tejido miocárdico están relacionados aparentemente con el gen HERG, que codifica el canal de potasio Ikr. La inhibición de HERG/Ikr por las fluoroquinolonas puede inducir la prolongación del intervalo QTc, y como consecuencia, podría provocar arritmias ventriculares o taquicardia ventricular conocida como “*torsade de pointes*”. Diferentes estudios lo han demostrado en diferentes fluorquinolonas que producen bloqueo del gen HERG aunque con diferente potencia (Fish, 2001).

Otros efectos cardiovasculares adversos asociados con las fluorquinolonas son: hipotensión o hipertensión, taquicardia, síncope, migraña, edema y dolor en el pecho (Fish, 2001).

- **Efectos hematológicos.**

El uso de fluoroquinolonas ha sido asociado a anormalidades hematológicas como anemia, metahemoglobinemia, leucopenia, granulocitopenia, aumentos y disminuciones en el tiempo de protrombina e incremento y disminución en la concentración de plaquetas, si bien, la incidencia ha sido baja (0,3-1%), y no se ha descrito una relación causal. Con excepción de temafloxacino, es raro que se asocie anemia hemolítica con el uso de estos antibacterianos (Fish, 2001).

- **Efectos inmunológicos.**

Reacciones de hipersensibilidad a fluorquinolonas han sido detectadas en diferentes estudios clínicos en el 0,6-1,4% de los pacientes. Estas reacciones fueron principalmente: eritema, prurito, urticaria y erupción cutánea, causadas por cualquier reacción alérgica o mediante la liberación de histamina (Stahlmann, 1990).

Liberación de histamina e hipotensión se ha observado durante la administración intravenosa rápida de fluorquinolonas (Lipsky y Baker, 1999). Otras reacciones como eritema cutáneo, picor y sensación de quemazón se han producido durante la administración intravenosa de ciprofloxacino (Thorsteinsson y cols., 1988).

También se ha dado un caso de enfermedad del suero durante la administración de ciprofloxacino y un caso mortal de vasculitis con la administración de ciprofloxacino y ofloxacino (Christ y Esch, 1994; Pace y Gatt, 1989).

Las reacciones anafilácticas a fluorquinolonas son raras, con una frecuencia de 0,46-1,2 casos/100000. Estas reacciones se produjeron a partir de los 5-60 minutos después de la administración de las mismas (Paton y Reeves, 1992).

- **Efectos carcinógenos y teratógenos.**

Está descrito que las quinolonas pueden inhibir a la topoisomerasa II de los mamíferos, homóloga de la ADN-girasa de las bacterias, produciendo toxicidad celular y clastogenicidad (roturas en la cadena de ADN) a concentraciones muy elevadas, aproximadamente de 300-10000 veces más de los requeridos para los efectos bacterianos. Se han realizado estudios de toxicología a largo plazo, y no se ha encontrado evidencia de efectos cancerígenos ni daño en el ADN humano después de la exposición clínica a estos antibióticos (Gootz y cols., 1990; Suto y cols., 1992).

En cuanto a los efectos teratogénicos, ha sido descrito pérdida de peso fetal y un aumento de la mortalidad fetal con levofloxacino en ratones, pero no en conejos, al administrar dosis muy elevadas (80 veces la dosis humana máxima). Gatifloxacino produjo malformaciones en el esqueleto y un aumento en la mortalidad neonatal y perinatal cuando se administró en ratas a dosis equivalentes o superiores a la dosis máxima en humanos. Moxifloxacino, a dosis iguales o superiores a la dosis máxima permitida en el hombre, produjo en conejos una pérdida de peso fetal y un retraso en la calcificación esquelética. También se ha registrado una disminución de peso al nacer en monos, a dosis de moxifloxacino 2,5 veces superiores a la máxima dosis recomendada en el hombre (Fish, 2001).

Las fluorquinolonas se clasifican por la FDA en la categoría C en embarazadas. Se han realizado estudios controlados en mujeres embarazadas y se ha concluido que deben utilizarse durante el embarazo sólo si el beneficio supera el riesgo potencial para el feto (Fish, 2001).

## **2.12.- INTERACCIONES.**

### **2.12.1.- INTERACCIONES CON MEDICAMENTOS.**

Las quinolonas, como la mayoría de antimicrobianos, presentan interacciones con otros grupos farmacológicos.

#### **❖ INTERACCIONES RELACIONADAS CON LA ESTRUCTURA:**

Existen algunas interacciones que están relacionadas con la estructura de la molécula, que se resumen a continuación:

- Los radicales unidos al nitrógeno de la posición 1 van a influir en la interacción con las xantinas. La presencia de radicales pequeños y lineales (ciclopropilo o etilo) aumenta la interacción con las xantinas; sin embargo, si el sustituyente es un fluoroetil (fleroxacino) o un 2,4-difluorofenilo (temafloxacino) disminuye el grado de interacción en un 10-25% en comparación con radical ciclopropilo (Lipsky y Baker, 1999).
- Existen interacciones entre el sustituyente en posición C7 y algunos antiinflamatorios no esteroideos y sus metabolitos. Incluso con ciertas quinolonas esta interacción puede aumentar de 100 a 300 veces. Aquellas fluorquinolonas que no presentan sustituciones en el anillo piperacínil (como ciprofloxacino, enoxacino y norfloxacino) muestran mayor interacción con los antiinflamatorios no esteroideos, mientras que las que presentan una cadena alquilada en el anillo piperacínil y un anillo pirrodínil muestran una interacción mínima (Lomaestro y Bailie, 1991).

También la posición 7 va a influir en la interacción de las quinolonas con las xantinas. Los radicales pequeños y lineales

incrementan esta interacción, mientras que los más voluminosos la disminuyen (Domagala, 1994).

- Los cambios producidos en X8 están relacionados con la interacción con los antiinflamatorios no esteroideos y con las xantinas (aunque en menor medida que los cambios en C7). Los derivados 1,8-naftidironas interfieren más en el metabolismo de las xantinas que aquellos que presentan derivados voluminosos en posición 8 (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

#### ❖ INTERACCIONES A NIVEL DE LA ABSORCIÓN:

Todas las fluorquinolonas interactúan con productos que contienen cationes multivalentes como aluminio, antiácidos que contienen magnesio y productos que contienen calcio, hierro o zinc. El uso concomitante de estos productos con fluorquinolonas reducen la absorción oral de estos antimicrobianos. Esto es debido a la formación de complejos insolubles mediante quelación, en el tracto gastrointestinal, que disminuyen la absorción. La quelación se produce sobre todo con aluminio y magnesio, si bien todos los productos que contengan cationes reducen la absorción de manera significativa, lo que aumenta la posibilidad de fracaso terapéutico (Fish, 2001).

Los preparados multivitamínicos contienen minerales que producen efectos negativos similares a los anteriores en la absorción de las fluorquinolonas. Al igual que ocurre con la administración concomitante con sulfato ferroso, que disminuye la biodisponibilidad de los antibióticos entre un 19-66% (Shiba y cols., 1992).

Para evitar estas interacciones, se deberán administrar estos productos al menos 2 horas antes o 4-6 horas después de la dosis de fluorquinolona (Shiba y cols., 1992).

Estudios realizados con la administración concomitante de fluorquinolonas con antagonistas de los receptores de histamina H<sub>2</sub> e inhibidores de la bomba de protones no han producido efectos clínicamente significativos sobre la absorción de estos antibióticos (Radandt y cols., 1992).

La absorción de ciprofloxacino se ve afectada negativamente, con una disminución del 26-29% en plasma de la C<sub>máx</sub> y del AUC, cuando se administra conjuntamente con didanosina, ya que su formulación está compuesta por carbonato de

aluminio e hidróxido de magnesio como tampón. Igualmente, pueden interactuar otras fluorquinolonas, por lo que su administración concomitante debe evitarse (Knupp y Barbhaiya, 1997).

#### ❖ INTERACCIONES A NIVEL DEL METABOLISMO:

Las fluorquinolonas pueden inhibir el aclaramiento de derivados de xantinas, incluyendo teofilina y cafeína. Esta interacción resulta del metabolismo de las fluorquinolonas por la isoenzima 1A2 del sistema citocromo P450. Las fluorquinolonas inhiben esta enzima previniendo el metabolismo/inactivación de las metilxantinas como cafeína y teofilina, provocando exceso de estas sustancias en sistema nervioso central y estimulación cardíaca. Esta interacción puede ser interesante en medicina veterinaria ya que ciprofloxacino es un metabolito de enrofloxacino (Radandt y cols., 1992).

Intorre y cols. (1994) estudiaron el efecto de enrofloxacino cuando se administra concomitantemente con teofilina. En este estudio se confirmó, que enrofloxacino disminuye el aclaramiento hepático y aumenta la semivida de eliminación de la teofilina, dando lugar a un aumento de sus concentraciones séricas.

El ácido pipemídico y la enoxacina son las quinolonas que provocan un mayor incremento en las concentraciones de teofilina, alcanzando incluso el 40%; ciprofloxacino provoca un aumento de alrededor del 5%; y norfloxacino, ofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino y gatifloxacino apenas modifican las concentraciones plasmáticas de este fármaco (Gobernado y Santos, 2002).

Algunas fluorquinolonas inhiben ciertas enzimas hepáticas que son utilizadas por la warfarina. Es por ello que su administración concomitante puede producir una disminución en el metabolismo de la warfarina y un aumento de la respuesta terapéutica. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que esta interacción no es clínicamente significativa (Fish, 2001).

Ciprofloxacino y norfloxacino disminuyen el aclaramiento de ciclosporina, aumentando sus concentraciones séricas (Davis y cols., 1996; McLellan y cols., 1995).

Enrofloxacino a las dosis usuales, inhibe las enzimas hepáticas P450IA1 y IA2, por lo que debe tomarse precaución cuando se administra en forma conjunta con



fármacos que utilizan este sistema enzimático, tales como warfarina, fenacetina y fenotiazina (Otero y cols., 2001b).

Por otro lado, enrofloxacin aumenta el contenido y estimula la actividad de la enzima hepática P450IIB, en forma leve a niveles terapéuticos, de modo que debería afectar al metabolismo de otros compuestos metabolizados por esta enzima, como el fenobarbital (Otero y cols., 2001b).

Existen informes que indican la posible existencia de interacciones entre las fluorquinolonas y determinados antibióticos contra micobacterias, concretamente rifampicina, pirazinamida y cicloserina. Rifampicina, es un inductor del CYP hepático, aumentando el metabolismo de grepafloxacin y por tanto obteniéndose niveles del mismo subterapéuticos. Pirazinamida y cicloserina interaccionan con ofloxacin produciendo un aumento de la toxicidad a nivel del sistema nervioso central cuando se administra junto con cicloserina y dando lugar a una mala tolerancia cuando se administra con pirazinamida (Fish, 2001).

#### ❖ INTERACCIONES A NIVEL DE LA EXCRECIÓN:

Cimetidina puede inhibir la secreción tubular renal, y por tanto, reducir el aclaramiento sistémico de fluorquinolonas que se excreten principalmente por vía renal (levofloxacin, ciprofloxacino, lomefloxacino, sparfloxacino, gatifloxacino) (Fish, 2001).

Probenecid puede inhibir, al igual que cimetidina, la secreción tubular renal de las fluorquinolonas eliminadas principalmente por excreción renal (Aminimanizani y cols., 2001).

En un estudio randomizado con 19 voluntarios sanos, que recibieron concomitantemente morfina (0,15 mg/kg) por vía intravenosa y trovafloxacino por vía oral (200 mg), los valores de los parámetros de trovafloxacino resultaron alterados, observándose una reducción del 36% en la biodisponibilidad y del 46% en el valor de la  $C_{m\acute{a}x}$  de trovafloxacino (Vincent y cols., 1998).

## ❖ OTRAS INTERACCIONES:

Las fluorquinolonas se antagonizan con macrólidos y tetraciclinas frente a estreptococos y enterococos y en general antagonizan también al cloramfenicol (Otero y cols., 2001b).

Se han notificado casos de convulsiones cuando se administró enoxacino con fenbufeno (Christ, 1990). El mecanismo parece ser la potenciación por los antiinflamatorios no esteroideos de la inhibición competitiva de los receptores GABA por las fluorquinolonas (Radandt y cols., 1992). Estudios en humanos no han encontrado evidencia significativa de interacción entre fenbufeno y ciprofloxacino (Kamali y cols., 1998). Es por ello, que no parece que exista interacción clínicamente significativa entre antiinflamatorios no esteroideos y las nuevas fluorquinolonas (Fish, 2001).

La administración de ciprofloxacino con foscavir ha dado lugar a un aumento de la frecuencia de convulsiones, por un mecanismo mediado por receptores GABA (Matsuo y cols., 1998).

Ciprofloxacino se ha asociado con un aumento de las concentraciones en suero de fenitoína cuando se administraron conjuntamente, existiendo evidencia clínica de toxicidad (Davis y cols., 1996).

Una de las interacciones más importantes de las quinolonas se presentan con fármacos como la warfarina y la digoxina. Estos no deberían asociarse con las fluoroquinolonas que prolongan el intervalo QT, por la posible aparición de arritmias y/o problemas cardiacos (Bertino y Fish, 2000).

Para minimizar el riesgo de prolongación del intervalo QT y arritmias, las fluoroquinolonas no deben co-administrarse con fármacos que prolonguen dicho intervalo, como eritromicina, disopiramida, o antidepresivos como amitriptilina (Curtis y cols., 2003; Owens y Ambrose, 2002; Owens y Ambrose, 2002b).

Se ha informado de un aumento en la frecuencia e intensidad de los ataques en perros epilépticos bajo tratamiento con fenobarbital cuando se administró enrofloxacin (Vancutsem y cols., 1990).

### **2.12.2.- INTERACCIONES CON ALIMENTOS.**

El grado en que las fluorquinolonas son absorbidas no se ve afectado significativamente por los alimentos. Se han realizado estudios con ciprofloxacino, levofloxacino, gatifloxacino y moxifloxacino, encontrándose alteraciones en las tasas de absorción de estos principios activos pero sin cambios en el grado de absorción (Fish, 2001).

Cuando las fluorquinolonas son administradas con los alimentos, el tiempo en alcanzar la concentración máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ) se retrasa, y la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ) se reduce un 8-16%. El área bajo la curva (AUC) no se vé modificado, y las alteraciones en los índices de absorción se consideran clínicamente insignificantes (Fish, 2001).

### **2.13.- PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS.**

Las variables farmacocinéticas describen la absorción, distribución y eliminación de los fármacos después de su administración. Las fluorquinolonas en la medicina veterinaria son administradas principalmente por vía oral aunque las formulaciones parenterales son utilizadas en perros, gatos, caballos etc. (Walker, 2000).

Las fluorquinolonas tienen en general buena absorción oral en animales (con la excepción de rumiantes y probablemente de los equinos) y completa absorción parenteral. Presentan semividas de eliminación relativamente largas, gran volumen de distribución (2 a 4 litros/kg y aún más) y excelente penetración tisular (incluyendo fagocitos). Su eliminación es fundamentalmente por excreción renal y su metabolismo es hepático (Brown, 1996).

Particularmente importantes son las propiedades farmacocinéticas y fisicoquímicas de un fármaco, que condicionan la elección de la dosis de un antibiótico, sobre todo cuando se presentan alguno de estos procesos (Martínez y cols., 2006):

1. El animal tiene alterada la función renal o hepática. En este caso, el aclaramiento puede estar comprometido, causando un incremento de la concentración sistémica de fármaco, que puede afectar a su seguridad.

2. La infección esta asociada a una descarga purulenta (pudiendo verse afectada la unión a proteínas y la difusión del fármaco en la zona infectada) o en una zona difícilmente accesible para el antibiótico.
3. La susceptibilidad del patógeno es desconocida o el patógeno es clasificado como intermedio por los criterios del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).
4. Las condiciones cuando se administra la dosis (por ejemplo, la presencia de comida tras una administración oral) pueden afectar a la biodisponibilidad del fármaco y por tanto a sus niveles sistémicos alcanzados.
5. Si hay un uso concomitante de otro fármaco, puede dar lugar a interacciones.
6. Si el animal está infectado con una cepa bacteriana altamente virulenta o tiene su función inmune comprometida (p.e.: animales geriátricos, animales tratados con corticoides).
7. Si queremos limitar la probabilidad de aparición de resistencias.

### **2.13.1.- ABSORCIÓN Y BIODISPONIBILIDAD.**

Aunque hay importantes variaciones individuales entre las diferentes quinolonas en las diferentes especies de animales, en general, las fluoroquinolonas son rápidamente absorbidas tras su administración oral en animales de estómago monocavitario, mientras que en rumiantes, las concentraciones sistémicas alcanzadas tras la administración por esta vía están por debajo de los niveles terapéuticos. Por ejemplo, la biodisponibilidad oral de enrofloxacin en rumiantes adultos alcanza solo el 10%, mientras que en no rumiantes es mayor del 80% (Greene y Budsberg, 1993; Vancutsem y cols., 1990).

En general, a menos que las administremos con alimentos que contengan alta cantidad de cationes divalentes, la administración oral postprandial de fluoroquinolonas no va a sufrir una disminución, clínicamente importante, en su biodisponibilidad. Sin embargo, debido a la naturaleza lipofílica de las quinolonas, los alimentos pueden incrementar su biodisponibilidad oral y, por tanto, aumentar las concentraciones

sistémicas. Por ejemplo, si administramos ibafloxacino junto con alimentos, se produce un incremento del AUC y  $C_{m\acute{a}x}$  en gatos (Coulet y cols., 2005).

La lipofilia (liposolubilidad) de estas moléculas promueve su absorción por difusión pasiva, pero los mecanismos de difusión no pasiva pueden influir también en la absorción intestinal (Dautrey y cols., 1999; Rabbaa y cols., 1997). El transporte mediado por transportadores a través de la membrana apical, ha sido demostrado con esparfloxacino, levofloxacino, ciprofloxacino y norfloxacino (Griffiths y cols., 1994; Rabbaa y cols., 1997). Es muy importante en este proceso que el fármaco esté completamente disuelto para que sea absorbido en los segmentos intestinales. Si no ocurre así, la biodisponibilidad oral será pobre y las concentraciones plasmáticas menores de las esperadas. También puede ocurrir una saturación de estos transportadores y un proceso de competición por otras moléculas (Griffiths y cols., 1994).

Este sistema de transportadores puede ser un importante mecanismo en la eliminación de quinolonas, debido a la secreción activa de fármaco desde la sangre a la luz intestinal. Ciprofloxacino, norfloxacino y perfloxacino sufren este mecanismo de eliminación (Dautrey y cols., 1999; Griffiths y cols., 1994). Además, esta secreción intestinal puede llevarse a cabo por diferentes transportadores para diferentes fluoroquinolonas. Así, mientras esparfloxacino es un sustrato de la P-glicoproteína, el transporte de ciprofloxacino puede ser mediado por transportadores catiónicos y/o aniónicos orgánicos (Dautrey y cols., 1999).

### **2.13.2.- DISTRIBUCIÓN.**

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 (Brown, 1996; Vancutsem y cols., 1990). Penetran bien en el tejido pulmonar, fluido de revestimiento y macrófagos alveolares, existiendo concentraciones mayores a las séricas (Wise, 1991). Varias quinolonas (incluyendo el enrofloxacino) llegan con rapidez a la glándula mamaria (Sumano y cols, 1993).

Las fluorquinolonas penetran y alcanzan concentraciones intracelulares muy elevadas tanto en las células fagocíticas como en las no fagocíticas, con una gran actividad intracelular frente a un amplio rango de microorganismos (Brown, 1996; Pascual y García, 1998).

La actividad *in vivo* de un agente antimicrobiano, debida a la capacidad del fármaco para pasar de la sangre a los tejidos, depende de la fracción libre de dicho fármaco. Por tanto, cuando usamos las características farmacocinéticas y farmacodinámicas para evaluar una dosis apropiada de una quinolona, es más interesante conocer la fracción libre de fármaco que la concentración total de este (Bergogne-Berezin, 2002; Drusano, 2002). A este respecto, es importante reseñar que las CMI's calculadas *in vitro* son determinadas en base a la concentración de fármaco libre. Desafortunadamente, en la bibliografía veterinaria, se le da muy poca importancia a este factor, y la mayoría de estudios farmacocinéticos expresan sus parámetros (por ejemplo: AUC,  $C_{m\acute{a}x}$ ) para concentración total de fármaco.

La existencia de barreras puede dificultar la difusión de un antibiótico al sitio de infección, provocando diferencias entre la concentración plasmática de fármaco y las concentraciones a las que están expuestos los microorganismos. Ejemplos de estas barreras son los abscesos, la barrera hematoencefálica y la pared bacteriana (Costerton y cols., 1999; Toutain y cols., 2002). Por esta razón, comprender la respuesta de un agente infeccioso, nos facilitará desarrollar y usar los ratios farmacocinéticos/farmacodinámicos para calcular la dosis óptima. De forma similar, la comprensión de las características de unión de un antibiótico y su capacidad para difundirse en tejidos a través de las barreras biológicas, ayudará a los clínicos a definir una apropiada pauta terapéutica (Martínez y cols., 2006).

Las fluoroquinolonas poseen, en general, amplios volúmenes de distribución, mayores de 1,0 L/kg (Aminimanizani y cols., 2001; Lode y cols., 1998). Cuando consideramos estos valores es importante conocer que los volúmenes de los fluidos corporales compartimentalizados son alrededor de 0,05 L/kg para plasma, 0,2 L/kg para fluidos extracelulares y 0,7 L/kg para el agua corporal total (Wamberg y cols., 2002). Volúmenes superiores a 0,7 L/kg indican que el fármaco está unido preferentemente a tejidos, pudiendo o no estar disponible para su función, y pudiendo haber sido secuestrado en el interior de las células. No obstante, cuando consideramos la

concentración de antibiótico intersticial libre, se ha confirmado que esta concentración es comparable a la concentración del fármaco libre en plasma venoso (Araki y cols., 1997). Por tanto, excluyendo las situaciones asociadas a la captación iónica, desde que se establece el equilibrio entre la sangre y la concentración de fármaco libre en tejidos (Muller y cols., 1999), las concentraciones de fármaco libre en tejidos pueden preverse en base a la concentración de fármaco libre en plasma, incluso en casos en que la unión a proteínas no es lineal (Kovar y cols., 1997).

### **2.13.3.- METABOLISMO Y EXCRECIÓN.**

Las fluorquinolonas son eliminadas del organismo principalmente por metabolismo hepático y excreción renal (Vancutsem y cols., 1990). Por lo general, son parcialmente metabolizadas en el hígado y excretadas en bilis y orina a altas concentraciones de fármaco activo (fármaco inalterado o metabolito activo) (Neer, 1988).

Las fluoroquinolonas, pueden ser clasificadas por su principal mecanismo de eliminación (Karablut y Drusano, 1993):

- ❖ Vía renal: enrofloxacino, orbifloxacino, ofloxacino, temafloxacino y lomefloxacino.
- ❖ Vía hepática: difloxacino y perfloxacino.
- ❖ Vía renal y hepático: marbofloxacino, danofloxacino, norfloxacino y ciprofloxacino.

El metabolismo hepático que sufren las fluoroquinolonas varía en las distintas especies animales y para las distintas quinolonas, lo que se traduce en un amplio rango de semividas (Greene y Budsberg, 1993; Vancutsem y cols., 1990). El metabolismo hepático de estos antibióticos incluye reacciones de glucuroconjugación (moxifloxacino, grepafloxacino, cinafloxacino y esparfloxacino), N-oxidación y desmetilación (levofloxacino), y se lleva a cabo principalmente por el sistema del citocromo P450 (Bergogne-Berezin, 2002). Otros mecanismos comunes son:

desalquilación, sulfoxidación, acetilación y ruptura del anillo piperazínico (Vancutsem y cols., 1990; Brown, 1996).

En animales la excreción renal es variable, aunque ocurre filtración glomerular para la fracción no ligada, y también secreción tubular activa (Brown, 1996). La filtración glomerular y la secreción tubular permiten alcanzar altas concentraciones urinarias.

Las quinolonas pueden verse afectadas por la secreción activa a través de la membrana intestinal. Además, las concentraciones intestinales de estos antibióticos también pueden variar en función de la secreción biliar y la existencia del ciclo enterohepático, que puede incrementar el tiempo de residencia de estos fármacos en el organismo. Por ejemplo, en perros Beagles, el 80% de una dosis intravenosa de difloxacino es eliminada en heces debido a la secreción biliar. Aproximadamente el 72-80% del fármaco en bilis es un éster glucurónido, y solamente el 6-9% está sin biotransformar. La forma glucurónida es hidrolizada en intestino, dando lugar a la forma original, que es reabsorbida. Como consecuencia de esto, la semivida del difloxacino en perros tras administración oral es de 9,4 horas (Martínez y cols., 2006).

La extensión de la eliminación renal de las fluoroquinolonas varía entre ellas. Levofloxacino y gatifloxacino se eliminan principalmente por el riñón, con un aclaramiento renal de levofloxacino mayor que el aclaramiento de la creatinina, aproximadamente un 60%, lo que sugiere la existencia de filtración glomerular y secreción tubular (Okazaki y cols., 1991).

El porcentaje de eliminación a través de la bilis varía entre las especies (Vancutsem y cols., 1990). 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 (McKellar, 1996).



### 2.13.4.- DIFERENCIAS INTERESPECÍFICAS.

Existen importantes diferencias ínterespecíficas farmacocinéticas entre las distintas fluoroquinolonas. Por ejemplo, el aclaramiento (Cl) de difloxacino en cerdos (0,16 L/kg/h) es substancialmente menor que en pollos (0,72 L/kg/h). Sin embargo, en pollos encontramos un volumen de distribución ( $V_{ss} = 3,06$  L/kg) mayor que cerdos ( $V_{ss} = 1,7$  L/kg). Consecuencia de este mayor aclaramiento, la semivida en pollos (4,1 h) tras una administración intravenosa es más corta que la de cerdos (7,92 h). Tras la administración oral, la biodisponibilidad fue similar en ambas especies ( $F_{cerdos} = 93,7\%$ ;  $F_{pollos} = 86,9\%$ ) (Inui y cols., 1998).

Cuando comparamos los resultados de aclaramiento de danofloxacino, en cabras y ovejas, tras su administración intravenosa. El aclaramiento en cabras (0,99 L/kg/h) es superior al descrito en ovejas (0,79 L/kg/h), si bien semivida en ovejas (3,27 h) es inferior a la hallada en cabras (5,46 h) (Escudero y cols., 2007).

Cox y cols. (2004), analizaron las relaciones alométricas para Cl y  $V_{ss}$  en diferentes especies de mamíferos (vacuno, cerdo, oveja, perro, rata, mono, cabra, búfalo y hombre) para ciprofloxacino y describieron las siguientes relaciones estimadas:

$$Cl = 20,6 \text{ (mL/min)} \times PC^{0,815} \text{ (peso corporal), } r = 0,95,$$

$$V_{ss} = 3,5 \text{ (L)} \times PC^{0,947} \text{ (peso corporal), } r = 0,93.$$

En el mismo estudio, Cox y sus colaboradores examinaron también las relaciones alométricas para enrofloxacino. El gráfico resultante de la representación de log PC frente log Cl o log  $V_{ss}$  mostró una importante dispersión. Sin embargo, aunque exista un valor alto de r, puede no ser muy precisa la extrapolación a especies desconocidas con estas relaciones alométricas para Cl y  $V_{ss}$ . Particularmente, pueden ocurrir grandes errores de extrapolación cuando intentamos predecir parámetros farmacocinéticos en grandes especies como el caballo y en terneros. También hay numerosos casos en que ecuaciones con bajos valores de r predicen extrapolaciones de forma altamente precisa para especies animales desconocidas (Mahmood, 2001).

En la siguiente tabla (7) se muestran diferentes valores de semividas ( $T_{1/2\lambda z}$ ) y biodisponibilidad (F), para diferentes fluoroquinolonas (Lees y AliAbadi, 2002b;

Carretero y cols., 2002; Greene y Budsberg, 1993; Mann y Frame, 1992; McKellar y cols., 1998; Siefert y cols., 1999; Waxman y cols., 2001; Fernández-Varón y cols., 2006b; Fernández-Varón y cols., 2006c; Marín y cols., 2007c; Fernández-Varón y cols., 2007d; Marín y cols., 2007d):

	ENROFLOXACINO		DANOFLOXACINO		MARBOFLOXACINO		DIFLOXACINO	
	F (VO) (%)	T <sub>1/2</sub> (h)	F (IM) (%)	T <sub>1/2</sub> (h)	F (IM) (%)	T <sub>1/2</sub> (h)	F (IM) (%)	T <sub>1/2</sub> (h)
Pollo	101	15,6	-	-	-	-	-	-
Pavo	61	3,9	-	-	-	-	-	-
Ternero	8	15,4	78	2,9	100	4,2	-	-
Cerdo	-	-	76	6,8	-	-	-	-
Oveja	-	-	95,7	3,35	-	-	99,9	13,9
Perro	91	4,9	-	-	-	8,6	-	-
Caballo	60	5,6	88,5	5,36	88	4,7	95,8	5,72
Cabra	-	-	-	-	100	7,2	106,7	10,4
Conejo	-	-	102,3	6,7	-	-	-	-

**Tabla 7.-** Comparación de la biodisponibilidad y semividas de eliminación de enrofloxaxino, danofloxacinoy marbofloxacino en diferentes especies animales.

### 2.13.5.- PENETRACIÓN EN LECHE.

La mastitis es un problema muy importante en la producción lechera caprina, ovina y bovina, no solo por las pérdidas económicas que provoca a los productores, sino también por la seguridad e higiene de los alimentos producidos para consumo humano. Generalmente las fluoroquinolonas se distribuyen ampliamente en la ubre, aunque su disposición depende de la especie animal. En caprino, los regímenes de dosificación son normalmente extrapolados de parámetros farmacocinéticos de ovino y bovino,

pudiendo dar lugar a dosis inapropiadas que conducen a niveles terapéuticos no efectivos, y por tanto, al riesgo de desarrollo de resistencias. Igualmente, si extrapolamos dosis demasiado elevadas, pueden aparecer efectos tóxicos.

Por ello, resulta necesario investigar la disposición de las fluoroquinolonas en caprino, así como su eliminación en leche, para evaluar su potencial uso en esta especie.

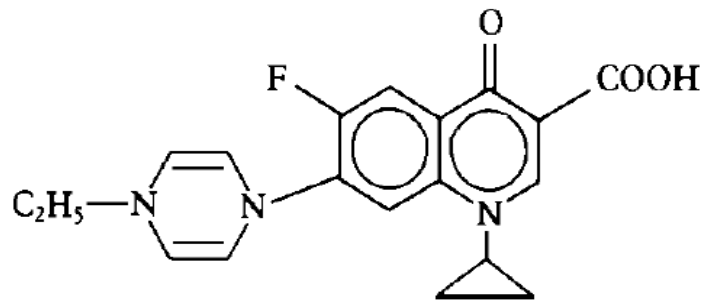
Hay que tener en cuenta, cuando se realizan estudios farmacocinéticos de eliminación en leche de un fármaco en animales sanos, que la mastitis provoca una serie de cambios físicos y químicos en la leche y en la glándula mamaria, que pueden alterar la distribución del antibiótico en dicho compartimento. La inflamación de la glándula mamaria va a conducir a cambios de la permeabilidad vascular y diferencias en la composición de la leche. El pH generalmente aumenta, la concentración de caseína desciende, la concentración de albúmina y células somáticas se incrementa, y los niveles de grasa pueden descender (todo ello genera alteraciones farmacocinéticas que no son debidamente consideradas). Todos estos factores tienen un impacto sobre la farmacocinética del fármaco, sin embargo, su importancia no es bien comprendida aún (Gehring y Smith, 2006). Por ejemplo, Fang y Pyörälä (1996) mostraron que la actividad de enrofloxacino en leche no mastítica contra cepas de *Escherichia coli*, se reducía a la mitad, mientras mantenía similar actividad en leche mastítica.

Enrofloxacino penetra en la leche hasta aproximadamente el doble de la concentración máxima de ciprofloxacino a concentraciones plasmáticas similares, aunque la eliminación de enrofloxacino de la leche es aproximadamente dos veces más rápida que la de ciprofloxacino (Bregante y cols., 1994).

## 2.14.- ENROFLOXACINO.

### 2.14.1.- ESTRUCTURA QUÍMICA Y RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD.

Enrofloxacinó (Figura 11) es una fluorquinolóna derivada del ácido nalidíxico, con un núcleo básico denominado dihidroquinolóna o anillo 4-quinolónico (Otero y cols., 2001a).



*Figura 11.- Estructura química de enrofloxacinó.*

El flúor en posición 6 mejora la unión a la DNA-girasa bacteriana y hace que su penetración celular sea hasta 70 veces superior a las quinolónas que no poseen este flúor (Sumano, 1993). También hizo que aumentase su eficacia frente a Gram negativos y se amplió su espectro de actividad contra Gram positivos (Otero y cols., 2001a).

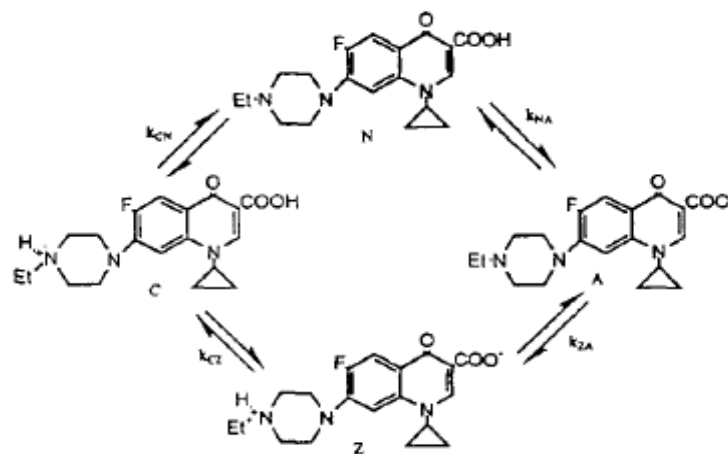
El anillo 4-metilopiperazin-1-il, en posición 7, le confiere mayor potencia al tratarse de un anillo voluminoso, al contrario que les ocurre a las quinolónas que tienen en ésta posición moléculas lineales. En la posición 4 del anillo presenta un grupo etilo que hace aumentar la absorción digestiva y la disponibilidad, además de hacer que en plasma se alcance el doble de concentración de enrofloxacinó que de ciprofloxacino, quinolóna con estructura parecida al enrofloxacinó pero sin este grupo etilo (Sumano, 1993; Otero y cols., 2001a).

### 2.14.2.- PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS.

Enrofloxacinó tiene un bajo peso molecular, favoreciéndose su penetración a nivel de los tejidos. Debido a su punto isoeléctrico, tiene la menor solubilidad y la mayor lipofilia (Otero y cols., 2001a).

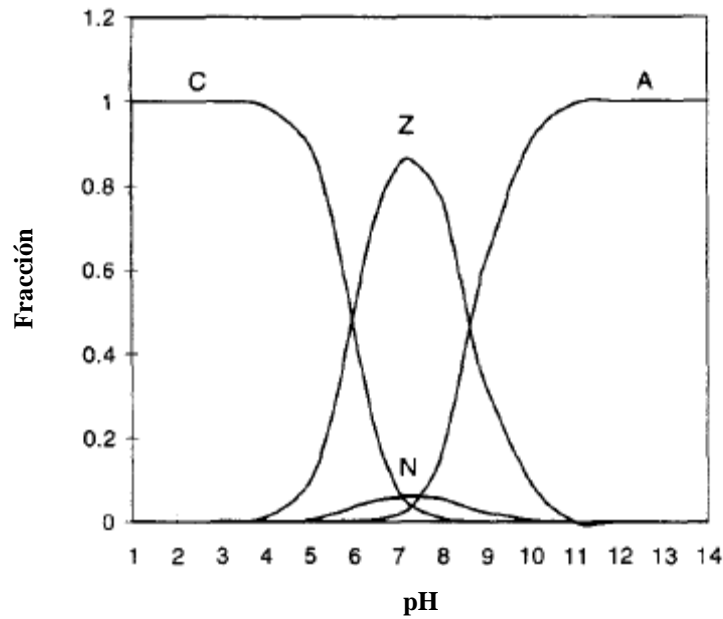
Las constantes de ionización para enrofloxacin son de  $5,94 \pm 0,09$  para el grupo del ácido carboxílico en posición 3 y  $8,70 \pm 0,44$  para el grupo básico piperazínico en posición 7 (Lizondo y cols., 1997).

Al igual que comentábamos para otras quinolonas, enrofloxacin puede existir en cuatro posibles formas dependiendo del pH dado (figura 12): como catión ácido (C), especie neutra no ionizable (N), una intermedia o zwitterión (Z) y como ión básico (A). De esta manera, a pH bajos tanto el grupo 7-piperazínico y el 3-carboxílico se encuentran protonados, mientras que a pH altos ninguno está protonado (Lizondo y cols., 1997).



**Figura 12.-** Formas del enrofloxacin en función del pH.

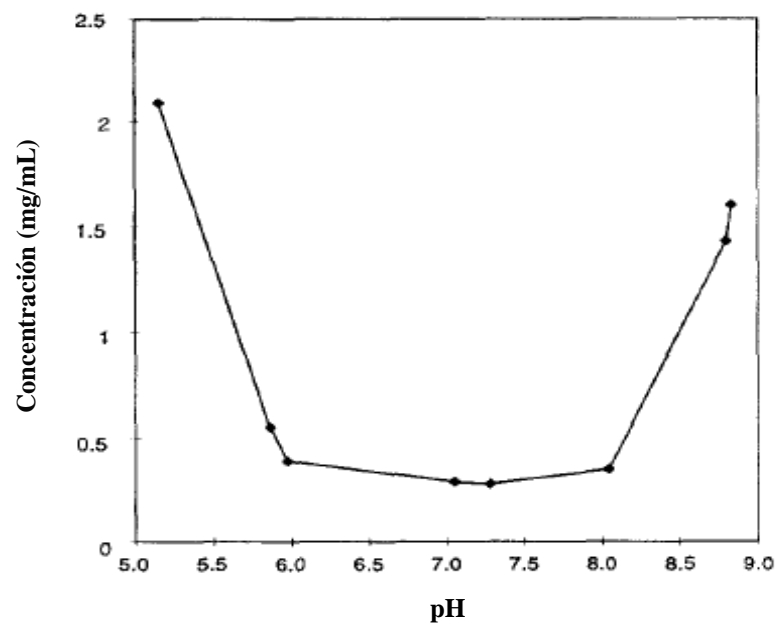
En la siguiente gráfica (Figura 13) se puede observar como varían las fracciones de las cuatro posibles formas en función del pH. En solución, las especies catiónicas y aniónicas se acercan a la concentración total de enrofloxacin a pH altos y bajos respectivamente. Las especies neutras alcanzan un máximo en el pH isoelectrico. La forma neutra es fundamentalmente la zwitterión, ya que la constante de disociación de del ácido carboxílico es mayor que la de la amina (Lizondo y cols., 1997).



**Figura 13.-** Distribución de la fracción de las cuatro especies de enrofloxacino en función del pH.

En cuanto a la solubilidad en agua del enrofloxacino, podemos destacar las siguientes características apreciables en la figura 14 (Lizondo y cols., 1997):

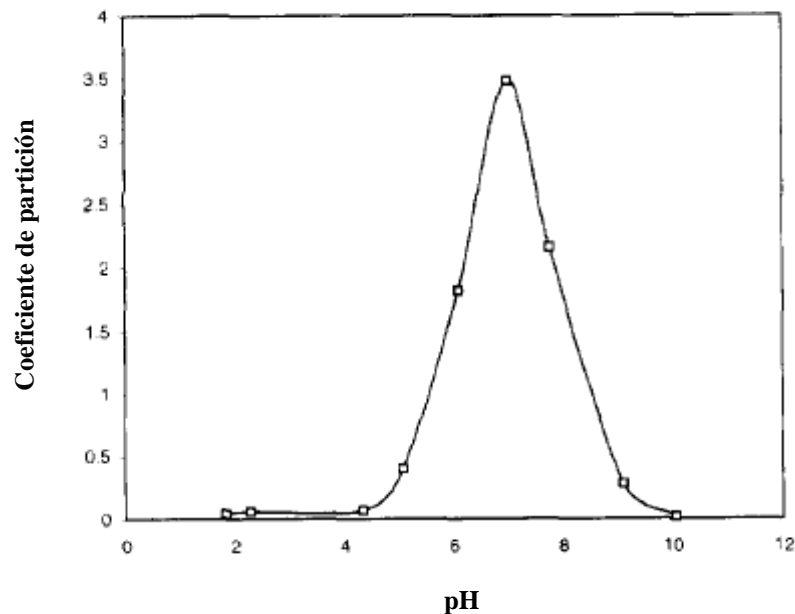
- La máxima solubilidad acuosa se alcanza a pH 5.02.
- Enrofloxacino presenta una solubilidad acuosa baja en la proximidad del punto isoeléctrico, pero una elevada solubilidad lipídica, lo cual facilita su difusión dentro de tejidos biológicos, incluyendo células bacterianas.



**Figura 14.-** Solubilidad/pH del enrofloxacino.

El coeficiente de partición octanol/agua para enrofloxacin se puede apreciar en la siguiente figura (figura 15). Esta curva, tiene una forma parabólica, lo cual indica la forma zwitterión de las quinolonas (Takács-Novák y cols., 1995).

La cantidad de enrofloxacin transferido desde la fase acuosa a la orgánica es máxima a pH 7. Tanto por debajo como por encima de este pH, los coeficientes de partición disminuyen, indicando que la polaridad de este antibiótico es alta (Lizondo y cols., 1997).



**Figura 15.-** Coeficientes de partición de enrofloxacin en función del pH.

Es importante entender la relación entre pKa, pH y la difusión del fármaco. Los fármacos ionizados son atrapados en el lugar de la infección, dando lugar a una alta concentración del mismo en el tejido en comparación con la sangre (Martínez y cols., 2006).

### 2.14.3.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO.

Enrofloxacino tiene una buena actividad frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, incluyendo algunos anaerobios patógenos y es eficaz contra *Mycoplasma spp.*

Es bactericida y mycoplasmicida a bajas concentraciones, y eficaz contra organismos que son resistentes a los betalactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas, antagonistas del ácido fólico y macrólidos (Otero y cols, 2001a).

*In vitro*, comparando su efecto con el de otros antimicrobianos como gentamicina, ampicilina, cloramfenicol, tetraciclinas, trimetoprima/sulfametoxazol, penicilina G y oxacinina, se encontró que enrofloxacino era claramente superior en el rango de los Gram negativos. Los valores de CMI para cocos Gram positivos estaban dentro del rango de eficacia de la penicilina G, ampicilina, oxacilina y gentamicina, aunque enrofloxacino fue superior en eficacia contra estafilococos meticilin resistentes. Comparada con otros derivados quinolónicos de uso en medicina veterinaria (como flumequina), enrofloxacino presenta un valor de CMI menor (factor 20-50) y la ventaja adicional de su eficacia contra *Mycoplasma spp.*, *Pseudomonas spp.*, y *Streptococcus spp.* Más del 50% de los aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* realizados a partir de perros, gatos, caballos, cerdos y vacunos demostraron susceptibilidad al enrofloxacino (Otero y cols., 2001a).

El enrofloxacino se metaboliza en parte a ciprofloxacino, siendo este metabolismo beneficioso desde le punto de vista microbiológico, ya que muchas bacterias Gram negativas tienen valores de CMI menores para el ciprofloxacino (Anadón y cols., 1995; Kaartinen y cols., 1995; Küng y cols., 1993).

A continuación (Tabla 8) se muestran rangos de CMI<sub>90</sub> para microorganismos sensibles. El punto de corte para sensibilidad-resistencia al enrofloxacino fue establecido en 2 µg/mL (Otero y cols., 2001a):



<b>CMI<sub>90</sub> µg/mL</b>	<b>MICROORGANISMOS</b>
≥ 2,0	<i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>Campylobacter coli</i>
≥ 1,0	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Actinomyces pyogenes</i> , <i>Rhodococcus equi</i> , <i>Streptococcus equi</i> , <i>Streptococcus suis</i> , <i>Streptococcus zooepidemicus</i> , <i>Mycoplasma</i> <i>hyorhinis</i> , <i>Campylobacter jejuni</i>
≥ 0,4	<i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Mycoplasma synoviae</i> , <i>Mycoplasma iowae</i>
≥ 0,2	<i>Proteus spp.</i> , <i>Escherichia coli.</i> , <i>Staphylococcus hyicus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Chlamydia psittaci</i> , <i>Mycoplasma</i> <i>hyopneumoniae</i> , <i>Mycoplasma hyosynoviae</i> , <i>Mycoplasma bovis</i> , <i>Mycoplasma agalactiae</i>
≥ 0,1	<i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia</i> <i>coli</i> , <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Mycoplasma gallisepticum</i>
≥ 0,05	<i>Klebsiella spp.</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> ; <i>Proteus</i> <i>mirabilis</i> , <i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> , <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
≥ 0,02	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Pasteurella haemolytica</i> , <i>Salmonella dublin</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
≥ 0,01	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , <i>Actinobacillus suis</i> , <i>Haemophilus</i> <i>somnus</i> , <i>Pasteurella multocida</i>

**Tabla 8.-** Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI<sub>90</sub> µg/mL) para algunos microorganismos.

#### **2.14.4- EFICACIA DE ENROFLOXACINO EN DIFERENTES ESPECIES.**

##### **A.- BOVINO:**

Se demostró la eficacia de enrofloxacinó en terneros, concretamente en diarreas y sepsis producidas por *Escherichia coli*, en infecciones experimentales del tracto respiratorio con *Pasteurella haemolytica* y *Mycoplasma Bovis*, y en infecciones latentes o manifiestas producidas por *Salmonella spp.* (Bauditz R., 1987).

En bovinos adultos, Lekeux y Art mostraron la alta eficacia de bajas dosis de enrofloxacinó en el tratamiento de la fiebre de embarque, atribuible a la actividad del compuesto frente a *Pasteurella spp.* y *Mycoplasma spp.* También, se obtuvieron buenos resultados en el tratamiento de mastitis bovinas causadas por *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma bovis* (Walser y cols., 1993; Aduriz y cols., 1996). Algunos autores citan eficacia terapéutica en mastitis causadas por *Streptococcus spp.*, mientras que otros sostienen que el efecto antibacteriano no es suficiente (Suman., 1993; Walser y cols., 1993).

##### **B.- OVINO:**

Cuando se trató con enrofloxacinó a ovejas con mastitis agudas causadas por *Staphylococcus aureus*, se obtuvo una rápida restauración del órgano y la reanudación de la producción normal de leche. Sin embargo, no ocurrió lo mismo en ovejas afectadas de agalactia contagiosa (*Micoplasma agalactiae* var. *Agalactiae*) ni en aquellas con mastitis gangrenosa (*Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens*), en las cuales hubo recuperación del estado general pero las lesiones en las ubres permanecieron sin cambios e interfirieron con la producción de leche. Se obtuvo una rápida recuperación clínica en corderos afectados de enteritis por *Escherichia coli* (Catarsini y cols., 1995).

##### **C.- EQUINO:**

Los ensayos de susceptibilidad *in vitro* del tratamiento con enrofloxacinó sobre 121 cepas bacterianas aisladas de equinos indicaron que el 100% de las bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Taylorella equigenitalis*, *Salmonella spp.*, *Klebsiella spp.*,

*Proteus spp.*, *Actinobacillus equuli*) y *Staphylococcus spp.* coagulasa positivos son susceptibles al enrofloxacino a CMI < 0.5 µg/mL. Sin embargo, la susceptibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* es variable. Para *Streptococcus equi*, *Streptococcus zooepidemicus*, y *Rhodococcus equi*, la CMI<sub>90</sub> es de 1 µg/mL (Giguère y cols., 1996).

Varias cepas de *Salmonella* aisladas de equinos (*S. typhimurium*, *S. thompson*, *S. heidelberg*, *S. hadar*, *S. enteritidis*, *S. infantis* y *S. derby*) son sensibles a enrofloxacino (Van Duijkeren y cols., 1995).

#### D.- PORCINO:

La mayoría de los aislados de *Streptococcus suis* (Aarestrup y cols., 1998) son sensibles al enrofloxacino, y este tiene buena actividad frente de *Mycoplasma hyosynoviae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, *Streptococcus equi* subsp. *equi* y *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* aislados de cerdos (Aarestrup y cols., 1998; Salmon y cols., 1995).

El enrofloxacino es eficaz en el tratamiento del síndrome Mastitis Metritis Agalactia y en infecciones producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* y *Eschericia coli* enterotoxigénica (Otero y cols., 2001a).

#### E.- CANINO:

Los ensayos experimentales y clínicos han mostrado resultados positivos en infecciones de la piel y de los tractos respiratorios, digestivos y genitourinarios en perros, así como en otitis externas e infecciones de heridas (Bauditz, 1987b). También es eficaz en el tratamiento de piodermitis causadas por *Staphylococcus intermedius*, constituyéndose en una buena alternativa frente a cepas meticilin resistentes (Pellerin y cols., 1988; Piriz y cols., 1996).

Las altas concentraciones de antimicrobiano alcanzadas en macrófagos alveolares y en el fluido del epitelio de revestimiento pulmonar, permiten asegurar el éxito de una terapéutica en infecciones de las vías respiratorias altas de los perros (Hawkins y cols., 1998). Sin embargo, las concentraciones alcanzadas en los tejidos a las dosis recomendadas por el fabricante, no son totalmente eficaces cuando las

infecciones son causadas por *Pseudomonas aeruginosa* (Duval y Budsberg, 1995; Walker y cols., 1992).

También enrofloxacino es eficaz en infecciones causadas por *Rickettsia rickettsii* y *Staphylococcus spp.*  $\beta$ -hemolíticos (Breitschwerdt y cols., 1991; Kruse y cols., 1996).

#### F.- FELINO:

Los hallazgos clínicos sugieren que el enrofloxacino es eficaz en el tratamiento de infecciones causadas por micobacterias oportunistas *Mycobacterium fortuitum* y *Mycobacterium smegmatis* en gatos (Studdert y Hughes, 1992). Los datos de susceptibilidad *in vitro* indican que enrofloxacino debería ser eficaz contra *Bartonella spp.* en esta especie. Sin embargo, estudios *in vivo* muestran que es necesaria una terapia de varias semanas, y que la bacteriemia no desaparece en todos los animales (Kordick y cols., 1997).

#### G.- AVE:

Enrofloxacino es eficaz en tratamientos preventivos y terapéuticos de pollos con infecciones experimentales causadas por *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella pullorum*, *Haemophilus paragallinarum*, *Pasteurella multocida*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Mycoplasma gallisepticum*; también lo es en infecciones naturales por *Escherichia coli*, *Mycoplasma gallisepticum*, y asociaciones entre *Escherichia coli* y *Mycoplasma spp.* (Otero y cols., 2001a).

El enrofloxacino es eficaz *in vitro* frente a *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Chlamydia psittaci*, microorganismos causantes de infecciones en pavos (Heinen y cols., 1997; Butaye y cols., 1997). En estas aves es eficaz para prevenir la transmisión vertical de *Mycoplasma iowae* y *Mycoplasma gallisepticum*, de modo que el tratamiento con enrofloxacino en períodos estratégicos podría ser útil en el control de micoplasmosis, limitando tanto la transmisión vertical como horizontal (Jordan y cols., 1993; Delaporte y cols., 1994).

El tratamiento con enrofloxacino en el agua de bebida podría ser efectivo contra *Pasteurella anatipestifer*, un importante agente infeccioso de los patos (Froyman y cols., 1994).

Además, enrofloxacino es eficaz en la profilaxis y en tratamientos de aves con psitacosis (Lindenstruth y Frost, 1993).

#### H.- OTRAS ESPECIES:

Enrofloxacino es eficaz en el tratamiento de conejos con septicemia aguda causada por *Pasteurella multocida* (Okerman y cols., 1990).

En estudios *in vitro* enrofloxacino fue el antimicrobiano de mayor actividad frente a los siguientes agentes infecciosos de peces: *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, *Vibrio salmonicida*, *Vibrio anguillarum* y *Yersinia ruckeri* (Martinsen y cols., 1992).

Se ha comprobado su eficacia en el tratamiento de enfermedades bacterianas de tortugas, especialmente en enfermedades del tracto respiratorio alto causadas por *Mycoplasma spp.* y *Pasteurella spp.* (Raphael y cols., 1994; Prezant y cols., 1994).

## 2.14.5- INDICACIONES CLINICAS.

### 2.14.5.1- INDICACIONES APROBADAS POR LA AGENCIA ESPAÑOLA DEL MEDICAMENTO Y PRODUCTOS SANITARIOS. FICHA TÉCNICA.

Según la ficha técnica, enrofloxacino solución inyectable 100mg/mL, está autorizado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitario para las siguientes indicaciones (Ficha técnica de Roxacin®, 2008):

- Tratamiento de enfermedades infecciosas provocadas por gérmenes Gram positivos, Gram negativos y mycoplasmas en porcinos y bovinos:
  - Cerdos: enteritis bacteriana, colibacilosis y síndrome Mamitis Metritis Agalactia (MMA). Activo frente a bacterias Gram positivas: *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Erisipelothrix spp*, *Corynebacterium spp*, *Clostridium spp*.; Gram negativos: *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Campylobacter spp*; *Proteus spp*, *Yersinia spp*, *Pseudomonas spp*, *Mycoplasma spp*.
  - Bóvidos: enfermedades bacterianas del tracto respiratorio y digestivo (pasteurelosis, micoplasmosis, colibacilosis, colisepticemia), así como,

enfermedades bacterianas secundarias, por ejemplo el complejo Crowding gripal del ternero. Es activo frente a *Escherichia coli*, *Haemophilus spp*, *Pasteurella spp*, *Mycoplasma bovis*.

#### **2.14.5.2.- INDICACIONES APROBADAS POR LA FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA).**

La Food and Drug Administration (FDA), autoriza en animales el uso de enrofloxacinó en las siguientes especies e indicaciones terapéuticas:

- Bóvidos (cárnicos y no lactantes):
  - Dosis:
    - Terapia de dosis única: 7,5-12,5 mg/kg de peso corporal por inyección subcutánea.
    - Terapia de dosis múltiples: 2,5-5 mg/kg de peso corporal por inyección subcutánea una vez al día durante 3-5 días.
  - Indicaciones: tratamiento de la enfermedad respiratoria bovina asociada con *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* y *Haemophilus somni*.
  - Limitaciones:
    - Los animales destinados a consumo humano no deben ser sacrificados dentro de los 28 días posteriores al último tratamiento con enrofloxacinó.
    - No utilizar en hembras de ganado lechero de 20 meses de edad o más. El uso de enrofloxacinó en este tipo de ganado, puede producir residuos en la leche.
    - No utilizar en terneros cuya carne vaya a ser procesada.
    - No inyectar más de 20 mililitros de solución inyectable en el animal.
- Cerdos:
  - Dosis: administrar 7,5 mg/kg de peso una vez por vía subcutánea detrás de la oreja.
  - Indicaciones: tratamiento y control de la enfermedad respiratoria porcina asociada con *Actinobacillus pleuropneumoniae*,

*Pasteurella multocida, Haemophilus paraseis y Streptococcus suis.*

### **2.14.5.3.- POSOLOGÍA, FORMA DE ADMINISTRACIÓN Y DURACIÓN DEL TRATAMIENTO.**

Según la ficha técnica del medicamento de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, la posología, forma de administración y duración del tratamiento de enrofloxacino es:

- Cerdos: administrar 2,5-5 mg/kg p.v. de enrofloxacino, equivalentes a 0,25-0,5 mL de ROXACIN® inyectable/10 kg p.v., cada 24 horas, durante 3-5 días seguidos, por vía intramuscular. No administrar más de 2,5 mL por punto de inoculación.
- Bóvidos: administrar 2,5-5 mg/kg p.v. de enrofloxacino, equivalentes a 0,25-0,5 mL de ROXACIN® inyectable/10 kg p.v., cada 24 horas, durante 4-5 días seguidos, por vía intramuscular. No administrar más de 5 mL por punto de inoculación (para animales de hasta 200 kg). En animales de peso superior a los 200 kg, el volumen máximo a administrar será de 15 mL por punto de inoculación.

Se recomienda determinar el peso de los animales para asegurar una correcta dosificación.

### **2.14.5.4.- CONTRAINDICACIONES.**

El uso de enrofloxacino está contraindicado en las siguientes situaciones (Ficha técnica de Roxacin®, 2008):

- No administrar en animales con trastornos en el crecimiento cartilaginoso.
- No administrar a cerdas gestantes a dosis altas y durante largo tiempo.
- No administrar: en casos de hipersensibilidad cutánea, en caso de resistencias conocidas frente a las quinolonas, ya que existe resistencia

cruzada casi completa. Frente a las fluorquinolonas la resistencia cruzada es completa.

#### **2.14.6- TOXICIDAD Y EFECTOS ADVERSOS.**

- **Efectos sobre el Sistema Nervioso Central (SNC).**

Información suministrada por los fabricantes de enrofloxacino especifican que no hubo efectos indeseables en SNC (Altreuther, 1998).

- **Efectos dermatológicos.**

Enrofloxacino no presenta efectos alérgicos (Altreuther, 1998).

- **Efectos hepáticos.**

Vancutsem y cols. (1990), demostraron que el enrofloxacino a niveles correspondientes a los usados en terapéutica causa una inhibición de las enzimas hepáticas P450IA1 y IA2. Por otra parte, el enrofloxacino incrementa el contenido y estimula la actividad de la P450IIB, pero en forma leve a niveles terapéuticos. Se ha encontrado que el enrofloxacino a dosis terapéuticas inhibe las monooxigenasas microsomales (citocromo P-450) en el hígado de pollos (Shlosberg y cols., 1997).

- **Efectos oculares.**

En gatos ha sido descrito a dosis altas de enrofloxacino, superiores a 5 mg/kg/día, degeneración de retina temporal o permanente asociada a midriasis y ceguera aguda (USP Drug information, 2003).

- **Efectos musculoesqueléticos.**

El efecto del enrofloxacino sobre un cultivo de células de tendón de caballos, adultos y juveniles ha sido investigado por Yoon y cols. (2004). Enrofloxacino inhibe la proliferación celular, induce cambios morfológicos, disminuye el contenido total de monosacáridos, y altera la síntesis de proteoglicanos en este tipo de cultivos celulares. Estos efectos son más pronunciados en cultivos celulares de animales jóvenes que en adultos.



Han sido informados casos de efectos adversos de enrofloxacino en el lugar de administración. Enrofloxacino es muy irritante cuando se administra vía intramuscular, ocasionando un marcado aumento de la creatinquinasa en suero e inflamación y dolor en el sitio de inyección en algunos casos (Kaartinen y cols., 1997a; Pyörälä, 1994).

▪ **Efectos cardiovasculares.**

Enrofloxacino no se ha asociado con una prolongación del intervalo QTc durante la administración del medicamento (Altreuther, 1998).

▪ **Efectos carcinógenos y teratógenos.**

Estudios realizados con enrofloxacino sobre pruebas de teratogenicidad, embriotoxicidad y mutagenicidad, dieron resultados de completa inocuidad (Altreuther, 1998).

Se han realizado ensayos clínicos en linfocitos humanos con enrofloxacino, en los que se ha informado un posible efecto genotóxico del mismo (Gorla, 1999).

## **2.14.7- INTERACCIONES CON MEDICAMENTOS.**

En la ficha técnica de enrofloxacino vienen descritas las siguientes interacciones (Ficha técnica de Roxacin®, 2008):

- Con tetraciclinas, por su efecto antagónico.
- Por razones tóxicas: con sulfametoxazol-trimetoprim.
- Por razones farmacocinéticas: con metales divalentes (magnesio) y trivalentes (aluminio) por reducirse la absorción.
- Por su unión a proteínas plasmáticas no se debe administrar conjuntamente con Aspirina®, hidrocortisona, fenilbutazona y sulfamidas, ya que por poseer una unión más fuerte pueden desplazar mayor cantidad de enrofloxacino libre en sangre.

## **2.14.8- PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS.**

### **2.14.8.1.- ABSORCIÓN Y BIODISPONIBILIDAD.**

Vancutsem y cols., informaron de los tiempos de aparición del pico de concentración plasmática ( $T_{m\acute{a}x}$ ) de enrofloxacin administrado en forma oral a caballos, perros, pavos, pollos y terneros, que fueron de 0,5, 0,9, 1,4, 2,5 y 5,4 horas, respectivamente.

Un estudio de Scheer, encontró que enrofloxacin es fácil y rápidamente absorbido tras la administración parenteral en terneros, cerdos, perros, gatos, pollos y pavos, alcanzándose concentraciones máximas dentro de las 0,5 a 2 horas. También encontró que los niveles de enrofloxacin tras su administración oral a cerdos y pollos son equivalentes a los encontrados tras la administración parenteral a las mismas dosis, lo cual sugiere buena absorción digestiva (Scheer, 1987).

Por otra parte, la absorción subcutánea en bovinos de enrofloxacin es extensamente absorbida, con una biodisponibilidad superior al 90% (Martínez y cols., 1997; Mckellar y cols., 1997).

En vacas lecheras, se alcanzan concentraciones máximas de enrofloxacin dentro de las 4 primeras horas, tanto para la vía sc como im. En un ensayo, la biodisponibilidad fue del 82% tras la administración im y del 100% tras la administración sc (Kartinen y cols., 1995).

En terneros la absorción es rápida, con una biodisponibilidad sistémica virtualmente completa, tanto por la vía sc. como im. (Scheer y De Jong, 1997).

En ovinos la biodisponibilidad del enrofloxacin es baja tras la administración oral, exigiendo el uso de dosis mayores por esta vía para alcanzar el éxito terapéutico (Pozzin y cols., 1997). Sin embargo, es rápida y casi completamente absorbida y distribuida tras su inyección im (biodisponibilidad mayor al 85%). La concentración plasmática máxima es rápidamente alcanzada y permanece varias horas elevada, superando las concentraciones mínimas inhibitorias para la mayoría de los patógenos (Mengozzi y cols., 1996).

En equinos, donde otras fluorquinolonas no han demostrado buena absorción por vía oral (Dowling y cols., 1995), el enrofloxacino tiene una biodisponibilidad de aproximadamente 60%, alcanzando concentraciones eficaces en plasma y tejidos, aún en animales no sometidos a ayuno (Giguère y cols., 1996; Giguère y Bélanger, 1997; Langston y cols., 1996). La absorción por vía im es más lenta en esta especie, aparentemente debido al efecto irritante del preparado sobre el sitio de inyección (Pyörälä y cols., 1994).

La biodisponibilidad del enrofloxacino es alta tanto en cerdos sometidos a ayuno como en los que reciben alimentos en el momento de la administración (Gyrd-hansen y Nielsen, 1994; Nielsen, 1997). Siempre que el consumo de alimentos no se encuentre afectado, la medicación con enrofloxacino en la ración provee, dentro de las 2 a 4 horas, concentraciones séricas y titulares por encima de la CMI para muchos patógenos importantes en estos animales (Banholzer y cols., 1997; Richez y cols., 1994). Una dosis oral de 10 mg/kg asegura concentraciones plasmáticas terapéuticamente eficaces durante 24 horas contra los patógenos más frecuentes en esta especie (Nielsen y Gyrd-hansen, 1997). La administración im permite una rápida absorción, con una biodisponibilidad mayor al 90 % (Pijpers y cols., 1997; Zeng y Fung, 1997).

En perros el enrofloxacino es rápidamente absorbido por vía oral, con una biodisponibilidad del 72 % (Cester y cols., 1996), aproximadamente del 83 % (Monlouis y cols., 1997), o cercana al 100 % (Küng y cols., 1993) según distintos autores. También es bien absorbida por la vía oral en gatos, con una biodisponibilidad de casi el 100 % (Richez y cols., 1997).

Es considerable la absorción cuando se administra enrofloxacino por vía oral a pollos, con una biodisponibilidad cercana al 60 % (Abd El Aziz y cols., 1997; Anadón y cols., 1995).

En conejos la biodisponibilidad es del 77 % para la administración sc y 61 % para la absorción gastrointestinal (Broome y cols., 1991).

### **2.14.8.2.- DISTRIBUCIÓN.**

Scheer, informó en bovino, porcino, perros, gatos, pollos y pavos, una dispersión del enrofloxacino en todos los órganos y tejidos, siendo la pauta de distribución muy similar en todas las especies estudiadas, con elevadas concentraciones (Scheer, 1987). Los estudios farmacocinéticos en bovino demostraron que el enrofloxacino se distribuye rápidamente y ampliamente en todo el organismo, con una excelente disponibilidad sistémica y una tasa de eliminación relativamente baja. La concentración plasmática media excede por mucho las CMI para los microorganismos patógenos más frecuentemente aislados en esta especie (Martínez Larrañaga y cols., 1997; Mckellar y cols., 1997; Malbe y cols., 1996). En terneros, por ejemplo, se demostró la presencia del principio activo en todos los tejidos y fluidos muestreados, hallándose concentraciones mayores a las del suero a la hora y después de 4 horas en pulmones, riñones, hígado, corazón, nódulos linfáticos y pared intestinal. Después de 12 horas de la aplicación, las concentraciones permanecían más altas en los tejidos que en el suero, con mayores valores en bilis y orina, y luego en orden decreciente, en hígado, riñones, corazón, pulmones y bazo. Las menores concentraciones se encontraron en cerebro (Scheer, 1987).

En cerdos, el enrofloxacino se distribuye bien y está completamente disponible después de la inyección im, con una eliminación bastante lenta (Pijpers y cols., 1997). Se encontraron niveles altos de enrofloxacino en mucosa nasal, septo nasal, pulmones, tejido linfático, músculo, hígado y pared intestinal de esta especie (Ganière y cols., 1997; Scheer, 1987).

En ovinos, el enrofloxacino administrado en forma im es ampliamente distribuido en el organismo, con una biodisponibilidad mayor al 85%, y un alto volumen de distribución (Mengozi y cols., 1996). Las áreas bajo las curvas concentración-tiempo son similares para la administración iv e im (biodisponibilidad 99%) pero reducida para la oral (biodisponibilidad 60%) (Pozzin y cols., 1997).

En equinos, tras múltiples administraciones intragástricas se alcanzan concentraciones superiores a las plasmáticas en hígado, riñón, bazo, líquido sinovial y orina; y similares o levemente mayores a las del plasma en: músculos, piel, corazón, pulmón, estómago, intestinos, vejiga, glándula mamaria y útero. Las concentraciones en

líquido peritoneal son significativamente menores que las concentraciones séricas, y las concentraciones en cerebro, cristalino, humor vítreo y humor acuoso son de 10 al 20% de las del suero. Las concentraciones alcanzadas en orina son de 170 a 830 veces mayores que las concurrentes en el plasma (Giguère y cols., 1996; Giguère y Bélanger, 1997).

El volumen de distribución en conejos de enrofloxacino y ciprofloxacino aumenta desde el día 8 al 60 de edad, posiblemente debido a los cambios en la composición corporal (Sárközy, 2001).

En perros enrofloxacino mostró una penetración similar en el fluido prostático y en tejidos, lo que significa que ambas concentraciones fueron más elevadas que las séricas (Dorfman y cols., 1995).

Se ha visto en conejos que la transferencia placentaria de enrofloxacino es aproximadamente 16 veces mayor que la de ciprofloxacino, lo que sugiere transportadores específicos para algunos compuestos a través de la placenta (Aramayona y cols., 1994).

Alta biodisponibilidad, amplia distribución y penetración en tejidos; concentraciones titulares mayores a las del plasma y por encima de las CMI para los patógenos más comunes; y semivida de eliminación relativamente prolongada, son todas características del comportamiento farmacocinético del enrofloxacino en perros (Monlouis y cols., 1997; Dorfman y cols., 1995; Hawkins y cols., 1998), gatos (Dorfman y cols., 1995), conejos (Aramayona y cols., 1996; Cabanes y cols., 1992), pollos (Abd El Kader y cols., 1995; Anadón y cols., 1995; Ganière y cols., 1997b; Kietzmann y cols., 1997) y pavos (Heinen y cols., 1997).

### **2.14.8.3.- METABOLISMO Y EXCRECIÓN.**

El enrofloxacino se metaboliza parcialmente a ciprofloxacino, mediante N-desalquilación, la cual es responsable de una considerable parte de la actividad antimicrobiana (Kartinene y cols., 1995; Mengozzi y cols., 1996; Küng y cols., 1993; Anadón y cols., 1995). El metabolismo se lleva a cabo en el hígado, y posiblemente en otros sitios como la ubre (Malbe y cols., 1996) o los macrófagos (Hawkins y cols.,

1998). El efecto de primer paso hepático es bajo, aproximadamente del 7% (Cester y Toutain, 1997). Las concentraciones plasmáticas del metabolito con respecto al fármaco madre (AUC concentración-tiempo) son de 35-55% en ovejas (Mengozzi y cols., 1996), 29% en vacas (Malbe y cols., 1996) y 25% en terneros (Richez y cols., 1994).

A continuación se destacan algunos valores de los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacino en distintas especies animales domésticas (Tabla 9) (Otero y cols., 2001b).

ESPECIE	DOSIS Y VÍA	C <sub>máx</sub> (µg/mL)	T <sub>máx</sub> (h)	Vd(ss) (L/Kg)	T <sub>1/2β</sub> (h)	MRT (h)
Bovino	5 mg/kg iv	-	-	2,1	1,09	4,28
Bovino	5 mg/kg im	0,73	2,40	-	5,90	7,98
Bovino	5 mg/kg sc	0,98	3,20	-	5,55	8,4
Ovino	2.5 mg/kg iv	-	-	3,02	3,73	5,36
Ovino	2.5 mg/kg im	0,78	1,25	3,03	3,65	5,23
Cerdos	2.5 mg/kg im	0,61	2,25	-	13,12	19,16
Cerdos	2.5 mg/kg iv	-	-	2,66	7,73	9,75
Pollos	10 mg/kg vo	2,44	1,64	4,41	14,23	15,30
Pollos	10 mg/kg iv	-	-	2,77	10,29	9,65
Perros	5 mg/kg vo	1,44	1,8	2,6	2,7	4,5
Perros	5 mg/kg iv	-	-	3,7	4,4	5,4
Gatos	5 mg/kg iv	-	-	4,0	6,7	8,6
Gatos	5 mg/kg vo	1,66	0,6	3,1	6,2	8,7
Conejos	5 mg/kg vo	0,45	2,3	-	2,41	8,46
Conejos	5 mg/kg im	3,04	-	-	1,82	-

**Tabla 9.-** Parámetros farmacocinéticos de enrofloxacino en especies domésticas.

### **3.- MATERIAL Y MÉTODOS**



### **3.1.- MATERIAL.**

Los materiales y productos utilizados para la realización del presente trabajo, se relacionan a continuación:

#### **3.1.1.- MATERIAL FUNGIBLE.**

- Agujas hipodérmicas.
- Cánulas intravenosas INSYTE<sup>®</sup> (22G x 1, 0,8 x 25mm).
- Jeringuillas de 2 mL recubiertas con 75 USP de heparina sódica.
- Tubos de ensayo de varias capacidades.
- Micropipetas de varias capacidades Gilson<sup>®</sup>.
- Puntas para micropipetas de varias capacidades
- Pipeta repetidora HandyStep<sup>®</sup>.
- Puntas de desplazamiento directo codificadas de varias capacidades Plastibrand<sup>®</sup>.
- Matraces aforados de varias capacidades.
- Matraces Erlenmeyer de varias capacidades.
- Placas de Petri de 10 cm de diámetro.
- Placas de poli-estireno de 96 celdillas.
- Vasos de precipitado de varias capacidades.
- Viales con tapón para autoinyector 8 x 40, 1 mL, Wheaton, USA.
- Filtros Millipore<sup>®</sup> tipo HV 0.45 µm de diámetro de poro.
- Tubos Eppendorf 1,5 y 2 mL.

#### **3.1.2.- PRODUCTOS Y REACTIVOS.**

- Agua bidestilada.
- Agar Mueller-Hinton II (Beckton Dickinson).
- Fosfato monosódico (Lote: 438397/1, Fluka, Madrid).
- Fosfato disódico (Lote: 1341318, Fluka, Madrid).

- Heparina sódica 5% (Lote: C-203, Mayne Pharma, España).
- Ácido trifluoroacético (Lote: 0000104389, Panreac Química, Barcelona).
- Acetonitrilo HPLC (Lote: 08Z4118, VWR Prolabo International, EC).
- Agua para HPLC (Lote: 08I090505, VWR Prolabo International, EC).
- Metanol para HPLC (Lote: 08Z3169, VWR Prolabo International, EC).
- Enrofloxacino (Lote: 0710254, Roxacin®, laboratorios Calier, Barcelona).
- Enrofloxacino experimental (Lote: KP041CN, Monheim, Alemania).
- Ciprofloxacino experimental (Lote: 1396108, Fluka, Madrid).
- Polímero P407 (Lote: W034793, Basf, Alemania).
- Carboximetilcelulosa (Lote: 1177849, Fluka, Madrid).

### **3.1.3.- APARATAJE.**

- Agitador magnético SBS A-06.
- Agitador de tubos Heidolph Reax 2000.
- Balanza de precisión Sartorius BP121S, pesada entre 0.0001 y 120 g.
- Campana de flujo laminar horizontal micro-V (Telstar).
- Centrífuga ALC modelo 4236.
- Congelador Sanyo MDF (- 45 °C).
- Replicador de inóculos Steers (Craft Machine, Inc, Cherter, Pa).
- Sonicador Branson 2200.
- Estufa Selecta.
- Espectrofotómetro de doble haz Spectronic, 2000.
- Frigorífico Electrolux® modelo ER 3818C.
- Neveras portátiles isotérmicas.
- Horno microondas Goldstart, modelo MA-894DD.
- Mechero Bunsen.
- Ordenador personal Pentium IV.
- pHmetro Crison Digit 501.

- Termómetro de mercurio.
- HPLC compuesto de:
  - Bomba cuaternaria modelo LC-10Asvp (Shimadzu).
  - Detector de fluorescencia de modelo RF-10Ax1 (Shimadzu).
  - Autoinyector modelo SIL-10Advp (Shimadzu), con refrigeración por sistema Peltier.
  - Desgasificador DGU 14A (Shimadzu).
  - Módulo mezclador FCV-10AL-VP (Shimadzu).
  - Horno para columnas CTO-10 ASvp (Shimadzu) con rango de temperaturas 4-80° C.
  - PC con el programa Shimadzu Class-VP Chromatography Data System.
  - Columnas Asentis 100 -5 µm C<sub>18</sub>, 15 cm x 4,6 mm (Supelco, Bellefonte, USA).
  - Precolumnas con la misma composición que la columna.

### **3.1.4.- SOFTWARE INFORMÁTICO.**

- Programa de Análisis Farmacocinético Winnonlin Professional® 5.0.
- Programa de análisis farmacocinético MULTIFIT® (PROOST, 1997).
- Paquete de análisis estadístico SPSS® versión 12.0.1, Chicago, 2003.
- Paquete de análisis estadístico STATGRAPHICS Plus® (versión 5) Manugistics, Inc., Rockville, USA.
- Programa de gráficos PRISM® 3.0. para WINDOWS (GRAPHPAD SOFT.INC.).
- Procesador de textos Microsoft® Word 2003 y Hoja de cálculo Microsoft® Excel 2003.

### 3.2.- ANIMALES.

Para la realización de esta Tesis se han utilizado 1 lote de 5 cabras de la raza Murciano-Granadina con pesos que oscilan entre 42,8 y 62 kg y de 2,5 a 3,5 años de edad procedentes de la granja de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia. Los pesos de cada animal se detallan a continuación, los cuales:

ANIMAL	IV*	SC*	SC1*	SC2*
CABRA 1	44,8	45	46,1	47,9
CABRA 2	58,2	59	59	62
CABRA 3	50,5	50,6	52,5	52,85
CABRA 4	58	58,2	59	61,6
CABRA 5	53	54	54,2	55

\* vía intravenosa (IV), vía subcutánea (SC), vía subcutánea en solución de P407 al 25% (SC1), vía subcutánea en solución de P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2).

Los animales estuvieron en régimen de estabulación semiintensiva, con alimento y bebida *ad libitum* durante toda la experiencia. Todos los animales se encontraban en buen estado de salud, y no recibieron ningún fármaco durante al menos 15 días antes del inicio de la experiencia. Además, durante el estudio, se controló su estado sanitario para asegurar la ausencia de enfermedades infecciosas y/o parasitarias.

### 3.3.- PROTOCOLO EXPERIMENTAL.

El antibiótico utilizado, enrofloxacino (Bayer, Alemania), se administró a la dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa en solución acuosa (IV) y subcutánea en solución acuosa (SC), y a la dosis de 15 mg/kg por vía subcutánea las dos formulaciones de liberación sostenida, en solución de P407 al 25% (formulación SC1) y en solución de P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (formulación SC2).

El estudio fue de tipo cruzado entre las cinco cabras (2x1x1x1) en 4 fases, con intervalos entre cada fase de 15 días para asegurar la ausencia de interferencias entre cada uno de los estudios. Así, el esquema utilizado para la administración del antibiótico a los animales fue el siguiente:

<b>ADMINISTRACIÓN</b>	<b>IV</b>	<b>SC</b>	<b>SC1</b>	<b>SC2</b>
Cabra	1,2	3	4	5
Cabra	5	1,2	3	4
Cabra	4	5	1,2	3
Cabra	3	4	5	1,2

En el caso de las formulaciones de liberación sostenida, su preparación se llevó a cabo de la siguiente manera: el volumen requerido para cada animal de la solución acuosa refrigerada de enrofloxacino fue vertida lentamente en un vial que contenía la cantidad apropiada de P407. La dispersión fue homogenizada mediante agitación orbital hasta su completa disolución. En el caso de la formulación con carboximetilcelulosa como coadyuvante, la cantidad requerida de coadyuvante para cada administración se pesó y disolvió en solución acuosa, a 4°C, de enrofloxacino, y esta mezcla fue adicionada a los viales que contenían la cantidad apropiada de P407.

❖ **Administración intravenosa:**

La solución acuosa de enrofloxacino se administró a cada uno de los animales objetos de estudio en la vena yugular derecha. La dosis administrada fue de 5mg/kg por peso corporal como dosis única.

Las muestras de sangre se recogieron de la vena yugular izquierda a los siguientes tiempos: 0 (blanco), 0,083, 0,167, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48 y 72 h desde la administración IV del fármaco. Las muestras de sangre fueron centrifugadas inmediatamente a 1500g durante 10 minutos para separar el plasma. Una

vez separado, éste se congeló por duplicado a - 45°C, dentro de los treinta minutos siguientes a la extracción, hasta el momento de realizar las determinaciones analíticas.

❖ **Administración subcutánea:**

La administración subcutánea de la solución acuosa de enrofloxacin y de las dos formulaciones en solución de P407 al 25% y en solución de P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% se administraron a nivel escapular, a una dosis de 5 mg/kg por peso corporal en caso de la solución acuosa de enrofloxacin, y de 15 mg/kg por peso corporal en el caso de las dos formulaciones comentadas, como dosis única.

Las muestras de sangre se recogieron de la vena yugular a los siguientes tiempos: 0 (blanco), 0,083, 0,167, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72, 96 y 120 h tras las tres administraciones subcutáneas. Las muestras recibieron el mismo tratamiento que con la administración intravenosa, es decir, fueron centrifugadas inmediatamente a 1500g durante 10 minutos para separar el plasma. Una vez separado, éste se congeló por duplicado a - 45°C, dentro de los treinta minutos siguientes a la extracción, hasta el momento de realizar las determinaciones analíticas.

Se evaluó el daño de la administración SC, en el punto de administración (previamente, convenientemente depilado), mediante la observación de signos de dolor por parte del animal, cojera, control de la temperatura dérmica en el punto de la administración, reacciones inflamatorias, formación de induraciones, etc.

❖ **Regogida de muestras de leche de los animales:**

Se estudió la eliminación del enrofloxacin y de su metabolito activo en la leche caprina. La toma de muestras de leche fue realizada a los siguientes tiempos: 0 (blanco), 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 32, 48, 72, 96 y 120 h tras la administración del fármaco tanto por vía intravenosa como subcutánea, mediante evacuación completa de ambas ubres.

La producción total de leche recogida fue refrigerada a 4-6 °C antes de almacenar dos alícuotas a - 45 °C hasta su posterior procesamiento.

### **3.4.- TÉCNICAS ANALÍTICAS.**

La determinación de las concentraciones en plasma y leche de enrofloxacino y su metabolito activo (ciprofloxacino) fue realizada mediante un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección por fluorescencia de acuerdo con el método descrito por SIEFERT y cols. (1999) para moxifloxacino modificado.

El procesamiento de las muestras fue el que se detalla a continuación: en un tubo ependorf con 200  $\mu$ L de plasma o leche se añaden 200  $\mu$ L de acetonitrilo, que hace que las proteínas precipiten. Posteriormente, son sometidas a agitación en un baño de ultrasonidos seguido de centrifugación durante 10 min a 3000 rpm. Del sobrenadante se extraen 100  $\mu$ L y se diluyen 4 veces con tampón fosfato sódico 0,067 M (pH 7,5) y se transfiere a los viales del autoinyector del HPLC.

La separación se llevó a cabo utilizando una columna de fase reversa Acentis C<sub>18</sub> de 150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m de diámetro de partícula, con un volumen de inyección de 25  $\mu$ L. Tanto las muestras dentro del autoinyector (sistema Peltier), como la columna fueron termostatzadas a 24°C. La fase móvil estaba compuesta por acetonitrilo (15%) y ácido trifluoroacético en solución (1 g/L) (85%). La velocidad de flujo de la misma fue de 1,0 mL/min. La detección se realizó a una longitud de onda de excitación de 276 nm y una longitud de onda de emisión de 442 nm.

### **3.5.- VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA.**

Las curvas de calibrado se prepararon con 9 concentraciones diferentes de enrofloxacino y ciprofloxacino entre 5 y 2000  $\mu$ g/L usando blancos de plasma o leche de las cabras. Las curvas estándar o patrón se obtuvieron por regresión lineal del área de los picos obtenidos frente a concentraciones conocidas de ambos fármacos. Cada punto se estableció de un promedio de tres determinaciones. El coeficiente de correlación (r) fue siempre  $> 0,99\%$  para todas las curvas de calibrado.

Las soluciones estándar de enrofloxacino y ciprofloxacino se prepararon mediante diluciones seriadas (en metanol en el caso del plasma y tampón fosfato para la leche) hasta alcanzar concentraciones finales de 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 y

2000 µg/L, a partir de una disolución madre de partida de 200000 µg/L. Los controles se prepararon a partir de un pool de blancos de plasma y leche con cantidades conocidas de enrofloxacin y ciprofloxacino para alcanzar concentraciones similares. Las alícuotas de plasma y leche se almacenaron a - 45 °C hasta su procesamiento.

Las alícuotas de los estándares, controles y muestras fueron procesadas como se describió anteriormente y se inyectaron 50 µL en el sistema cromatográfico.

Los porcentajes de recuperación se determinaron comparando las áreas de los picos de los controles con distintas concentraciones de fármaco (concretamente a 50, 250 y 1000 µg/L en el caso del plasma, y 50, 500 y 1000 µg/L en el caso de la leche), con las áreas de los picos de los estándares a las concentraciones correspondientes preparados con tampón fosfato. Cada punto se establece a partir de un promedio de tres determinaciones. Los porcentajes de recuperación de enrofloxacin y de su metabolito activo (ciprofloxacino), tanto en plasma como en leche, se muestran a continuación:

<b>CONCENTRACIÓN (µg/L)</b>		<b>RECOVERY (%) ENROFLOXACINO</b>	<b>RECOVERY (%) CIPROFLOXACINO</b>
<b>PLASMA</b>	50	87,0337	88,2208
	250	97,4835	91,5486
	1000	97,7709	88,7500
<b>LECHE</b>	50	77,4331	97,0528
	500	96,3324	94,1158
	1000	97,6477	90,5367



La precisión del ensayo se evaluó expresando la desviación estándar relativa (RDS) como un porcentaje del valor medio. La precisión intra-día se estimó mediante el análisis, en el mismo día, de tres muestras (de plasma y leche) repetidas de tres concentraciones estándar (50, 500 y 1000  $\mu\text{g/L}$ ) usadas para las curvas de calibrado, obteniéndose valores de RSD: en plasma,  $< 3\%$  para enrofloxacino y ciprofloxacino, y en leche,  $< 2\%$  para enrofloxacino y  $< 4\%$  para ciprofloxacino. La precisión inter-día se estimó mediante el análisis de tres concentraciones estándar (50, 500 y 1000  $\mu\text{g/L}$ ) durante tres días consecutivos. Los resultados de precisión expresados como RSD fueron los siguientes: en plasma,  $< 8\%$  para enrofloxacino y  $< 5\%$  para ciprofloxacino, y en leche,  $< 4\%$  para enrofloxacino y  $< 8\%$  para ciprofloxacino.

El límite de detección de enrofloxacino en plasma y leche se ha establecido para la concentración más baja que se ha podido detectar diferenciándola del ruido de fondo del aparato. El límite de cuantificación se ha establecido para el nivel de concentración más bajo utilizado en las curvas de calibrado y para el que el RSD es menor al 20%. El límite de detección en plasma y leche fue de 5  $\mu\text{g/L}$  para enrofloxacino y de 10  $\mu\text{g/L}$  para ciprofloxacino. En cuanto al límite de cuantificación, en plasma y leche fue de 5  $\mu\text{g/L}$  para enrofloxacino y de 25  $\mu\text{g/L}$  para ciprofloxacino. .

### **3.6.- ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO.**

#### **3.6.1.- ANÁLISIS COMPARTIMENTAL. PLASMA.**

Una vez obtenidas las concentraciones de enrofloxacino y de su metabolito ciprofloxacino en plasma a los diferentes tiempos de extracción tras la administración, se han ajustado los datos a las ecuaciones mono- y biexponenciales mediante el programa WinNonlin Professional<sup>®</sup> (versión 5.0) y el programa MULTIFIT, propuesto por Proost (1997), y basado en Yamaoka y cols. (1981). Los ajustes se han realizado empleando varios criterios de ponderación.

Una vez realizados los ajustes a los diferentes modelos farmacocinéticos, el criterio utilizado para determinar cual era la ecuación que mejor se ajustaba a los datos observados fue el Criterio de Información de Akaike ó AIC (Yamaoka y cols., 1978), cuya expresión es:

$$AIC = N \cdot \ln [ \sum_{i=1}^N W_i \cdot (C_i' - C_i)^2 ] + 2 \cdot p$$

donde  $N$  es el número de puntos experimentales y  $p$  el número de parámetros del modelo en cuestión. La expresión contenida entre corchetes corresponde a la suma de cuadrados residuales, donde  $C_i$  es la concentración obtenida experimentalmente,  $C_i'$  es la concentración teórica obtenida a partir de la ecuación correspondiente a ese modelo, hallada utilizando el método de los mínimos cuadrados y  $W_i$  es el factor de ponderación. El modelo con el valor mínimo de AIC se considera el óptimo.

### **3.6.2.- ANÁLISIS NO COMPARTIMENTAL. PLASMA.**

Los parámetros no compartimentales se calcularon de acuerdo con la teoría de los momentos estadísticos (Riegelman y Collier, 1980; Gibaldi y Perrier, 1982), utilizando el programa informático WinNonlin Professional<sup>®</sup> (versión 5.0).

La biodisponibilidad se ha calculado relacionando las áreas totales bajo las curvas de concentración plasmática obtenidas por el método trapezoidal, tras las administraciones extravasculares (subcutáneas) e intravenosas. Este parámetro queda indicado como  $F$ .

### **3.6.3.- ANÁLISIS DE DATOS. LECHE.**

Los datos de concentración en leche obtenidos a los diferentes tiempos fueron analizados mediante un método no compartimental, usando el programa informático WinNonlin Professional<sup>®</sup> (versión 5.0). Se calcularon los siguientes parámetros no compartimentales:  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $T_{m\acute{a}x}$ ,  $AUC$ ,  $t_{1/2\lambda z}$ ,  $MRT$ , además de los ratios  $AUC_{leche}/AUC_{plasma}$  y  $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$ .

También se calculó el porcentaje de excreción del enrofloxacino y de su metabolito activo, ciprofloxacino.

Para todos los parámetros calculados, se tuvieron en cuenta los volúmenes totales de ordeño a cada tiempo.

### 3.7.- MÉTODOS ESTADÍSTICOS.

En este estudio se han realizado una serie de estudios estadísticos con el fin de obtener datos estadísticos de interés, más importantes y de evaluar la homogeneidad de los datos utilizados.

Se calcularon los siguientes parámetros estadísticos de centralización: media, desviación estándar, coeficiente de variación y error típico.

Para verificar la homogeneidad de las distintas concentraciones obtenidas para cada tiempo de extracción, se ha utilizado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, mediante el cual se ha comprobado el ajuste de dichas concentraciones a la distribución normal. También se ha utilizado esta prueba para verificar la existencia o no de diferencias entre los valores de los distintos parámetros farmacocinéticos obtenidos para un mismo modelo de ajuste, considerando cada vía de administración del enrofloxacino. Para este análisis, se ha utilizado software estadístico SPSS<sup>®</sup> versión 12.0.1, Chicago, 2003.

Además, se calcularon el coeficiente de correlación R y de determinación R<sup>2</sup> para comparar el ajuste entre las concentraciones experimentales y las concentraciones teóricas para cada animal y vía de administración.

Para detectar la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos obtenidos entre las distintas vías de administración se ha utilizado el test t-student como método paramétrico. Para este análisis, se ha utilizado software estadístico STATGRAPHICS Plus (versión 5).

### **3.8.- ANÁLISIS BACTERIANOS Y OBTENCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES MÍNIMAS INHIBITORIAS (CMI).**

Catorce cepas de *Staphylococcus aureus*, las cuales fueron aisladas de leche de cabra con infecciones intramamarias en España, fueron estudiadas.

Las concentraciones mínimas inhibitorias se determinaron mediante el método de dilución en agar NCCLS (Nacional Committee for Clinical Laboratory Standards; NCCLS, 2000). Tras incubar a +37°C durante una noche, el inóculo fue suspendido en solución salina al 0,9% NaCl hasta obtener una suspensión estándar de 0,5 según la escala de McFarland y finalmente diluidas de nuevo 40 veces antes de su análisis. Las pruebas de CMI fueron realizadas en placas de poli-estireno que contienen aproximadamente 96 celdillas. Las placas contenían diluciones de antimicrobiano (concentraciones de enrofloxacino comprendidas entre 0,03 y 128 µg/mL) con 100 µL/celda de agar Mueller-Hinton que fueron inoculadas con las diferentes cepas. Las placas fueron incubadas a +37°C y se observaron a las 24 horas. Se definió la concentración mínima inhibitoria como la mínima concentración que inhibía el crecimiento de los microorganismos. Las cepas utilizadas como control fueron *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) y *Escherichia coli* (ATCC 25922).

## **4.- RESULTADOS**

#### **4.1.- ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE ENROFLOXACINO.**

Los valores de concentración plasmática de enrofloxacin, obtenidos tras la administración intravenosa de 5 mg/kg de enrofloxacin de peso a cabras, se muestran en la Tabla 1. En todos los casos, se observa como, en los animales se produce un descenso rápido de las concentraciones durante las primeras 6-8 horas tras la administración. Posteriormente, ese descenso continua pero de manera más sostenida. Este hecho se puede corroborar observando los Gráficos 1 a 5, correspondientes a cada animal.

La evolución de los valores medios de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin (media  $\pm$  SD) a los distintos tiempos de extracción, se muestra en los Gráficos 6 y 7, representación directa y semilogarítmica, respectivamente. En la Tabla 2 se muestran dichos valores medios junto con sus estadísticos.

Con respecto al coeficiente de variación, Wagner (1968) indica que, en los ensayos farmacocinéticos, cuando los valores de concentración plasmática se distribuyen normalmente, los coeficientes de variación que se obtienen, oscilan entre el 25% y 75%. Además, establece que el número de animales idóneo a utilizar en estos estudios debe estar comprendido entre 5 y 20. Como se puede observar en la Tabla 2, hemos obtenido valores por debajo del 75% en todas las extracciones incluso inferiores a ese 25%, encontrándose el mínimo valor de coeficiente en 6,99% y el máximo en 62,84%, correspondientes a las 0,083 y 32 horas, respectivamente.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, se ha realizado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV entre todos los valores de concentración plasmática de enrofloxacin, obtenidos en los diferentes animales para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este estudio se muestran en la Tabla 3, donde puede apreciarse que el nivel de significación es muy elevado para todos los tiempos de extracción, salvo el valor correspondiente a la concentración obtenida a las 0,5 horas, sin embargo, el coeficiente de variación no supera el 16% (Tabla 2).

De esta forma, la homogeneidad de los datos obtenidos no sólo es suficiente, sino que está plenamente probada, por lo que no es preciso incrementar el número de animales.

Con el fin de corroborar una buena correlación entre las concentraciones experimentales y teóricas de cada animal y para las concentraciones medias, se ha

procedido a realizar un análisis de regresión. Los resultados de dicho estudio aparecen en las Tabla 4, en la que se comprueba que no existen diferencias significativas entre las mismas, por lo que las concentraciones teóricas son plenamente representativas del proceso y el ajuste obtenido es totalmente válido.

Estudiada la homogeneidad de los datos, se ha procedido al ajuste de los mismos a modelos farmacocinéticos lineales mono y bicompartimentales, mediante regresión no lineal, utilizando el programa de análisis farmacocinético WINNONLIN Professional® (versión 5.0), sin ponderación de los datos y con ponderación de los datos, obteniéndose mejores resultados cuando se ponderaban las concentraciones.

Mediante la obtención de los distintos AIC (Criterio de Información de Akaike) (Yamaoka y cols., 1978), nos permitió obtener un mejor ajuste de los datos a un modelo bicompartimental.

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes a un ajuste bicompartimental para cada uno de los animales y para las concentraciones medias, se muestran en la Tabla 5. Sus respectivos valores medios, así como otros estadísticos de desviación quedan reflejados en la Tabla 6, en la cual se observa como los coeficientes de variación son inferiores al 75% señalado por Wagner (1968), correspondiendo el mayor valor a la constante de transferencia del compartimento central al compartimento periférico ( $k_{12}$ ), que muestra un valor de 56,81%. Estos coeficientes de variación son un indicio de la homogeneidad de los parámetros obtenidos para el ajuste bicompartimental.

Para concretar la idoneidad de los datos, se ha realizado una prueba de KOLMOGOROV-SMIRNOV, cuyos resultados se muestran en la Tabla 7, donde se comprueba como, en general, los niveles de significación son muy elevados en todos los parámetros. Por tanto, los datos son homogéneos.

En la Tabla 8 se pone de manifiesto las relaciones que se establecen entre las constantes híbridas de disposición rápida y lenta ( $\lambda_1$  y  $\lambda_2$ ), las microconstantes de transferencia y retorno entre los compartimentos central y periférico ( $k_{12}$  y  $k_{21}$ ), y la constante de eliminación ( $k_{10}$ ) para cada cabra, como las obtenidas con el ajuste de las concentraciones medias. En la Tabla 9 se muestran los estadísticos más importantes de dichas relaciones, así como sus respectivos valores medios.

La Tabla 10 muestra los resultados del estudio farmacocinético no compartimental, obtenidos mediante el programa WINNONLIN Professional® (versión

5.0), para cada animal y sus concentraciones medias. En dicha Tabla aparecen los valores del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), el tiempo medio de residencia (MRT), el aclaramiento (Cl) y el volumen aparente de distribución en función del área bajo la curva ( $V_z$ ) no compartimentales. Las medias de dichos valores, así como los estadísticos más relevantes, aparecen en la Tabla 11. Finalmente, se ha realizado a dichos valores la prueba de KOLMOGOROV-SMIRNOV, y los resultados correspondientes aparecen en la Tabla 12. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación y unos niveles de significación dentro de los niveles considerados adecuados por Wagner (1968).

En la Tabla 13, se exponen los valores de concentración plasmática de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacino, obtenidos tras la administración intravenosa de 5 mg/kg de enrofloxacino de peso a cabras. En todos los casos, se observa como la concentración de ciprofloxacino sigue una evolución semejante a lo largo del tiempo, aumentando en la mayoría de los animales hasta aproximadamente las 1,5 horas, y descendiendo posteriormente de una manera gradual, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 12 horas tras la administración del enrofloxacino, con excepción de la cabra 1 en la que el último valor de concentración plasmática detectable fue a las 10 horas de la administración.

Las representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino obtenidas en cada animal tras la administración intravenosa de enrofloxacino se muestran en los Gráficos 8 a 12, y la de los valores medios de las concentraciones plasmáticas (media  $\pm$  SD), a los distintos tiempos de extracción, aparece en el Gráfico 13. Así mismo, en el Gráfico 14, aparece la representación semilogarítmica de los citados valores (media  $\pm$  SD).

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, junto con los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 14. Los coeficientes de variación obtenidos son bajos, sin superar el 30%.

La confirmación de la homogeneidad de los datos se llevó a cabo mediante el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV entre todos los valores de concentración plasmática de ciprofloxacino, obtenidos en los diferentes animales para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este test se muestran en la Tabla 15, donde puede apreciarse que el nivel de significación es muy elevado para todos los tiempos de extracción, a excepción de las 1,5 horas, que resulta algo más bajo.



Estudiada la homogeneidad de los datos, al igual que con el enrofloxacino, se ha procedido al ajuste de los mismos a modelos farmacocinéticos lineales mono y bicompartimentales, mediante regresión no lineal, utilizando el programa de análisis farmacocinético WINNONLIN Professional<sup>®</sup> (versión 5.0), sin ponderación de los datos y con ponderación de los datos, obteniéndose mejores resultados cuando se ponderaban las concentraciones. Los valores obtenidos de AIC nos permite concluir que los datos obtenidos presentan un mejor ajuste a un modelo monocompartimental.

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes a un ajuste monocompartimental y no compartimental, para cada uno de los animales y para las concentraciones medias se muestran en la Tabla 16. Los valores medios de dichos parámetros, así como los estadísticos de desviación aparecen en la Tabla 17, en la cual se observa como los coeficientes de variación son inferiores al 75% señalado por Wagner (1968), oscilando entre valores del 3,48% y del 37,53%, manteniéndose como normales.

Al igual que en enrofloxacino, para concretar la idoneidad de los datos, se ha realizado una prueba de KOLMOGOROV-SMIRNOV, cuyos resultados se muestran en la Tabla 18. Los resultados obtenidos reflejan unos niveles de significación muy elevados en todos los parámetros. Por tanto, los datos son homogéneos.

En la Tabla 19, se detallan los ratio del metabolito ciprofloxacino en cada animal, calculados mediante el cociente entre el AUC de ciprofloxacino y el AUC del enrofloxacino.

En el Gráfico 15, se representan los valores medios de concentraciones plasmáticas (media  $\pm$  SD) de enrofloxacino y de su metabolito activo, ciprofloxacino, en el que se observa como las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino son superiores a las de su metabolito activo, ciprofloxacino, en todos los tiempos de extracción, siendo detectable el enrofloxacino hasta las 48 horas tras su administración. Ciprofloxacino se detecta hasta las 12 horas posteriores a la administración de enrofloxacino. Igualmente, en el Gráfico 16, aparece la representación semilogarítmica de los citados valores (media  $\pm$  SD).

#### **4.2.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO.**

La Tabla 20 muestra los valores de concentración plasmática de enrofloxacino obtenidos tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de peso. Se observa como en los cinco animales, a partir del primer tiempo de extracción la concentración del fármaco va aumentando hasta aproximadamente las 1,5 - 4 horas, y posteriormente va descendiendo paulatinamente, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 48 horas tras la administración.

Las correspondientes representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino obtenidas en cada animal tras su administración subcutánea se muestran en los Gráficos 17 a 21.

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino, junto con los estadísticos de desviación, se presentan en la Tabla 21. Entre estos estadísticos figura el coeficiente de variación que en todos los casos es inferior al límite máximo admisible del 75% indicado por Wagner (1968), concretamente el valor mínimo del coeficiente de variación en nuestro caso es de 11,20% (a las 10 horas de la administración) y el máximo de 48,70% (a las 24 horas de la administración). Las representaciones gráficas de los valores medios de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino (media  $\pm$  SD), a los distintos tiempos de extracción se muestran en el Gráfico 22, y en el Gráfico 23 aparece la representación semilogarítmica de dichos valores medios (media  $\pm$  SD).

Para confirmar la homogeneidad de los datos se realizó el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV entre todos los valores de concentraciones plasmáticas de enrofloxacino obtenidas en los distintos animales para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este test, se muestran en la Tabla 22. Como se puede observar, se obtienen niveles de significación elevados en todos los tiempos, a excepción de las 0,25 y 24 horas que son algo más bajos.

Al igual que en la administración intravenosa, se ha realizado un análisis de regresión para demostrar la existencia de una buena correlación entre las concentraciones experimentales y teóricas de cada animal y para las concentraciones medias. Los resultados de dicho estudio aparecen reflejados en las Tabla 23, en la que se comprueba que no existen diferencias significativas entre las mismas, por lo que las concentraciones teóricas son plenamente representativas del proceso y el ajuste obtenido es totalmente válido.

De la misma manera que en la administración intravenosa del fármaco, se ha procedido al ajuste de las concentraciones plasmáticas obtenidas experimentalmente en cada uno de los animales, así como de las concentraciones medias, a modelos farmacocinéticos mono y bicompartimentales, sin ponderación de los datos y con ponderación de los datos, obteniéndose mejores resultados cuando se ponderaban las concentraciones. Los datos experimentales no fueron susceptibles de ajuste por regresión no lineal a un modelo monocompartimental, ajustándose a un modelo bicompartimental.

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste bicompartimental, para cada uno de los animales y para las concentraciones medias, se presentan en la Tabla 24. Los valores medios de estos parámetros así como diversos estadísticos de desviación, quedan reflejados en la Tabla 25. Como se puede observar, los coeficientes de variación oscilan entre valores del 4,99% y del 61,26%, manteniéndose por tanto inferiores a los considerados por Wagner (1968) como normales.

El ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos para el modelo bicompartimental, se ha comprobado mediante la realización de un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 26). Los elevados niveles de significación obtenidos demuestran la homogeneidad de los datos experimentales, con excepción del valor obtenido para la constante híbrida de disposición rápida ( $\lambda_1$ ). Sin embargo, podemos observar en la Tabla 25, que este parámetro presenta un coeficiente de variación inferior al 25%, concretamente un valor de 14,74%.

Los parámetros correspondientes al análisis farmacocinético no compartimental, para cada uno de los animales como para las concentraciones medias, se presentan en la Tabla 27. Los parámetros que se muestran son los valores no compartimentales siguientes: el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), el tiempo medio de residencia (MRT), el tiempo medio de absorción (MAT), el aclaramiento (Cl/F) y el volumen aparente de distribución ( $V_z/F$ ) en función del área bajo la curva y de la biodisponibilidad, así como la biodisponibilidad (F).

Las medias de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales, así como los estadísticos más relevantes aparecen en la Tabla 28. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación por debajo del 25%, con excepción del tiempo medio de residencia (MAT) con un valor del 52,79%. Finalmente, mediante la prueba de KOLMOGOROV-SMIRNOV se comprueban unos niveles de

significación muy elevados, lo que demuestra el ajuste a la distribución normal y por tanto su homogeneidad. Los valores de esta prueba se muestran en la Tabla 29.

Los valores de concentración plasmática de ciprofloxacino, metabolito activo del enrofloxacino, obtenidos tras la administración subcutánea de una dosis de enrofloxacino de 5mg/kg de peso a cabras, se muestran en la Tabla 30. Las concentraciones de ciprofloxacino se detectaron en plasma a partir de las 0,25 – 0,5 horas de la administración de enrofloxacino, aumentando hasta las 4 horas tras la administración en todas las cabras. A partir de aquí, las concentraciones descendieron, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 12 horas después de la administración de enrofloxacino. Este hecho es más fácil de observar en los Gráficos 24 a 28, correspondientes a cada animal.

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, junto con los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 31. La representación gráfica de dichos valores medios (media  $\pm$  SD), a los distintos tiempos de extracción, aparece en el Gráfico 29. Así mismo, en el Gráfico 30, aparece la representación semilogarítmica de dichos valores medios (media  $\pm$  SD).

Con respecto al coeficiente de variación, los valores obtenidos no superen el 42%, siendo estos valores muy inferiores al límite máximo admisible del 75% indicado por Wagner (1968).

La confirmación de la homogeneidad de los datos se ha comprobado mediante la realización del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, aplicándose a todos los valores de concentración plasmática de ciprofloxacino, obtenidos para los diferentes animales, para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este análisis, se muestran en la Tabla 32. Como se puede observar en dicha Tabla, los niveles de significación son muy elevados, para todos los tiempos de extracción, a excepción de las 1,5 horas que es algo inferior, si bien, como se puede observar en la Tabla 31, este tiempo de extracción presenta un coeficiente de variación que no supera el 20%. Por tanto, queda comprobado el ajuste de las concentraciones a la distribución normal.

Una vez estudiada la homogeneidad de los datos, al igual que en casos anteriores, se ha procedido al ajuste de los mismos a modelos farmacocinéticos lineales mono y bicompartimentales, mediante regresión no lineal, utilizando el programa de análisis farmacocinético WINNONLIN Professional<sup>®</sup> (versión 5.0), sin ponderación de los datos y con ponderación de los datos. Los mejores ajustes obtenidos, son los

resultantes de la ponderación de las concentraciones plasmáticas. Según los AIC obtenidos, los datos presentan un mejor ajuste a un modelo monocompartimental.

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes a un ajuste monocompartimental y a un ajuste no compartimental, para cada uno de los animales y para las concentraciones medias, se muestran en la Tabla 33. Sus correspondientes valores medios, así como diversos estadísticos, se muestran en la Tabla 34. En esta última Tabla, se puede observar como los coeficientes de variación son adecuados, oscilando entre un valor mínimo de 10,24% y un máximo de 47,19%, muy por debajo del 75% señalado por Wagner (1968).

El ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos para el modelo monocompartimental, se comprueba mediante la realización de un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 35). Los elevados niveles de significación obtenidos demuestran la homogeneidad de los datos experimentales, excepto para la constante de formación del ciprofloxacino ( $K_f$ ) y la vida media de formación del metabolito ( $t_{1/2kf}$ ), si bien, como se puede observar en la Tabla 34, se obtienen unos coeficientes de variación adecuados, concretamente de 47,19% y 29,56%, respectivamente.

En la Tabla 36, se exponen los valores de las ratio del metabolito ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacin, calculados mediante el cociente de AUC de ciprofloxacino y enrofloxacin de cada animal y de sus concentraciones medias.

En el Gráfico 31, se representan los valores medios de concentraciones plasmáticas (media  $\pm$  SD) de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacino. En él se observa como las concentraciones de enrofloxacin en plasma son superiores a las de su metabolito activo, ciprofloxacino, en todos los tiempos de extracción y como enrofloxacin se detecta en plasma durante un tiempo más prolongado que su metabolito, concretamente, 48 horas frente a 12 horas, respectivamente. Igualmente, en el Gráfico 32, aparece la representación semilogarítmica de los citados valores (media  $\pm$  SD).

### **4.3.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25%.**

Los valores de concentración plasmática de enrofloxacinó obtenidos tras la administración subcutánea de una dosis de enrofloxacinó, en solución del polímero P407 al 25%, de 15 mg/kg de peso a cabras aparecen reflejados en la Tabla 37. En los cinco animales, la concentración del fármaco sigue una evolución semejante a lo largo del tiempo, aumentando hasta aproximadamente las 2-6 horas tras la administración del fármaco, y descendiendo posteriormente de una manera gradual, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 72-96 horas, si bien en la Cabra 1 no se detectaron concentraciones plasmáticas después de las 32 horas de la administración del enrofloxacinó.

Las representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacinó obtenidas en cada animal tras su administración subcutánea se muestran en los Gráficos 33 a 37, y la de los valores medios de las concentraciones plasmáticas (media  $\pm$  SD), a los distintos tiempos de extracción, aparece en la Gráfica 38. Así mismo, en la Gráfica 39, aparece la representación semilogarítmica de los citados valores (media  $\pm$  SD).

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacinó, junto con los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 38. Los coeficientes de variación obtenidos son inferiores al 75% indicado por Wagner, excepto los tres primeros tiempos de extracción tras la administración del enrofloxacinó (0,083, 0,166 y 0,25 horas) en los que se supera el 75%.

Para confirmar la homogeneidad de estos resultados, se realizó un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, entre todos los valores de concentración plasmática de enrofloxacinó obtenidos en los diferentes animales, para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este test, se muestran en la Tabla 39. Como puede apreciarse los niveles de significación son muy elevados en todos los tiempos, a excepción de las 0,083, 0,166, 0,25 y 24 horas, que resultan algo más bajos.

Con el fin de corroborar una buena correlación entre las concentraciones experimentales y teóricas de cada cabra, y de sus concentraciones medias, se ha procedido a realizar un análisis de regresión. Los resultados de dicho estudio aparecen en la Tabla 40, en la que se comprueba que no existen diferencias significativas entre las

mismas, por lo que las concentraciones teóricas son plenamente representativas del proceso y el ajuste obtenido es totalmente válido.

De la misma manera que en la administración intravenosa y subcutánea anteriores del fármaco, se ha procedido al ajuste de las concentraciones plasmáticas obtenidas experimentalmente en cada uno de los animales, así como de las concentraciones medias, a modelos farmacocinéticos mono y bicompartimentales, con ponderación y sin ponderación de las concentraciones. Los resultados de dichos ajustes muestran un menor valor de AIC para el modelo bicompartimental con ponderación en todos los animales.

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste bicompartimental, para cada uno de los animales y para sus concentraciones medias, se muestran en la Tabla 41. Los valores medios de dichos parámetros, así como diversos estadísticos de desviación quedan reflejados en la Tabla 42. En esta última, podemos apreciar como los valores de los coeficientes de variación obtenidos, oscilan entre el 20,37% y el 66,33%, valores inferiores, en cualquier caso, a los considerados por Wagner (1968) como normales.

Como en los casos anteriores, en función del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV se comprueba el ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos para el modelo bicompartimental en los cinco animales. En la Tabla 43 se presentan los resultados de dicha prueba, apreciándose elevados niveles de significación para todos los parámetros, excepto para la constante de retorno desde el compartimento periférico ( $K_{21}$ ).

El resultado del estudio farmacocinético no compartimental queda reflejado en la Tabla 44. En dicha Tabla aparecen los valores no compartimentales del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), el tiempo medio de residencia (MRT), el tiempo medio de absorción (MAT), el aclaramiento (Cl/F) y el volumen aparente de distribución ( $V_z/F$ ) en función del área bajo la curva y de la biodisponibilidad, así como la biodisponibilidad (F).

El estudio estadístico de los parámetros no compartimentales se muestra en la Tabla 45. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación bajos, sin superar el 43,71%. El correspondiente test de KOLMOGOROV-SMIRNOV se presenta en la Tabla 46, donde se demuestra el ajuste a la distribución normal, ya que en todos los parámetros se obtienen niveles de significación adecuados.

Los valores de concentración plasmática de ciprofloxacino, metabolito activo del enrofloxacino, obtenidos tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de peso de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%, se reflejan en la Tabla 47. Como se puede observar, las concentraciones de ciprofloxacino se detectaron en plasma a partir de las 0,25-0,5 horas de la administración de enrofloxacino, aumentando hasta las 4-6 horas tras la administración en todas las cabras. Posteriormente, las concentraciones descendieron, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 24-32 horas después de la administración de enrofloxacino. Este hecho lo podemos observar en los Gráficos 40 a 44, correspondientes a cada animal.

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, junto con los estadísticos de desviación, se presentan en la Tabla 48. Entre estos estadísticos figura el coeficiente de variación que en ningún caso supera el 58%, dato inferior al límite máximo admisible del 75% indicado por Wagner (1968). En el Gráfico 45 se representan los valores medios ( $\text{media} \pm \text{SD}$ ) de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, a los distintos tiempos de extracción y en el Gráfico 46 aparece la representación semilogarítmica de dichos valores medios ( $\text{media} \pm \text{SD}$ ).

Según el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV realizado a las concentraciones obtenidas en los distintos animales para un mismo tiempo, a fin de comprobar su homogeneidad (Tabla 49), se obtienen niveles de significación elevados en todos los tiempos, siendo el valor correspondiente a las 12 horas algo inferior.

A continuación, se ha procedido al ajuste de las concentraciones plasmáticas obtenidas experimentalmente en cada uno de los animales, y de las concentraciones medias a modelos farmacocinéticos mono y bicompartimentales, de la misma forma referida anteriormente. Los mejores ajustes obtenidos, son los resultantes de la ponderación de las concentraciones plasmáticas. Según los AIC obtenidos, los datos presentan un mejor ajuste a un modelo monocompartimental, como en las situaciones anteriores.

Los parámetros farmacocinéticos monocompartimentales y no compartimentales, para cada uno de los animales y sus concentraciones medias, se presentan en la Tabla 50. Los valores medios de estos parámetros y algunos estadísticos de desviación, quedan reflejados en la Tabla 51. Entre estos estadísticos figura el coeficiente de variación que, aunque para algún parámetro adquiere valores elevados



( $k_t$ ), en ningún caso (valor máximo: 66,21 %) se han obtenido valores superiores al límite máximo admisible, del 75 %, indicado por Wagner (1968).

El ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos para el modelo monocompartimental, se comprueba mediante la realización de un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 52), que presenta altos niveles de significación.

La Tabla 53, muestra los valores de porcentaje de las ratio del metabolito ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407, calculados mediante el cociente de AUC de ciprofloxacino y enrofloxacino de cada animal y de sus valores medios.

En el Grafico 47, se representan los valores medios de concentraciones plasmáticas (media  $\pm$  SD) de enrofloxacino y de su metabolito activo, ciprofloxacino. Podemos observar como las concentraciones de enrofloxacino en plasma, al igual que en las situaciones anteriores, son superiores a las de su metabolito activo, ciprofloxacino, en todos los tiempos de extracción. Además, se muestra como enrofloxacino se detecta en plasma durante un tiempo más prolongado que su metabolito, concretamente, 96 horas frente a 32 horas, respectivamente. Así mismo, en el Gráfico 48, aparece la representación semilogarítmica de los citados valores (media  $\pm$  SD).

#### **4.4.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2%.**

La Tabla 54 muestra los valores de concentración plasmática de enrofloxacino obtenidos tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de peso de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%. En los cinco animales, a partir del primer tiempo de extracción la concentración del fármaco va aumentando hasta aproximadamente las 4-6 horas, y posteriormente va descendiendo de manera gradual, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 120 horas tras la administración del fármaco.

Las correspondientes representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino obtenidas en cada animal tras su administración subcutánea se muestran en los Gráficos 49 a 53.

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino, junto con los estadísticos de desviación, se presentan en la Tabla 55. Entre estos estadísticos el coeficiente de variación en todos los casos es inferior al límite máximo admisible del 75% indicado por Wagner (1968), correspondiendo el valor máximo a 49,11% (a las 0,25 horas de la administración). Las representaciones gráficas de los valores medios de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino (media  $\pm$  SD), a los distintos tiempos de extracción se muestran en el Gráfico 54, y en el Gráfico 55 aparece la representación semilogarítmica de dichos valores medios (media  $\pm$  SD).

La homogeneidad de los datos se ha confirmado con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV entre todos los valores de concentraciones plasmáticas de enrofloxacino obtenidas en los distintos animales para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este test, se muestran en la Tabla 56. Como se puede observar, se obtienen niveles de significación muy elevados en todos los tiempos.

Para demostrar la existencia de una buena correlación entre las concentraciones experimentales y teóricas de cada animal y para sus concentraciones medias, al igual que en anteriores casos, se ha realizado un análisis de regresión. Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla 57, en la que se comprueba que no existen diferencias significativas entre las mismas, por lo que las concentraciones teóricas son plenamente representativas del proceso y el ajuste obtenido es totalmente válido.

Al igual que en anteriores situaciones, se ha procedido al ajuste de las concentraciones plasmáticas obtenidas experimentalmente en cada uno de los animales, así como de las concentraciones medias, a modelos farmacocinéticos mono y bicompartimentales, sin ponderación de los datos y con ponderación de los datos, obteniéndose mejores resultados cuando se ponderaban las concentraciones. Los datos experimentales no fueron susceptibles de ajuste por regresión no lineal a un modelo monocompartimental, ajustándose a un modelo bicompartimental.

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste bicompartimental, para cada uno de los animales y para las concentraciones medias, se presentan en la Tabla 58.

En la Tabla 59, se muestran los valores medios de los parámetros farmacocinéticos así como diversos estadísticos de desviación. Como se puede observar, los coeficientes de variación oscilan entre valores del 14,24% y del 43,78%, situándose muy por debajo del 75%, señalado por Wagner (1968) como normal.

El ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos para el modelo bicompartimental, se ha comprobado mediante la realización de un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 60). Los niveles de significación obtenidos son muy elevados, lo que demuestra la homogeneidad de los datos experimentales, siendo el valor del tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ) algo inferior, si bien su coeficiente de variación es del 15,94% como podemos observar en la Tabla 59.

En la Tabla 61, se muestran los parámetros correspondientes al análisis farmacocinético no compartimental, para cada uno de los animales y para las concentraciones medias. Al igual que en las administraciones subcutáneas anteriores, se muestran los parámetros no compartimentales siguientes: área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), el tiempo medio de residencia (MRT), el tiempo medio de absorción (MAT), el aclaramiento (Cl/F) y el volumen aparente de distribución ( $V_z/F$ ) en función del área bajo la curva y de la biodisponibilidad, así como la biodisponibilidad (F).

Las medias de los valores de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales, así como los estadísticos más relevantes aparecen en la Tabla 62. Finalmente se ha realizado a dichos valores la prueba de KOLMOGOROV-SMIRNOV, y los resultados correspondientes aparecen en la Tabla 63. Como se puede observar,

todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación dentro de los niveles considerados adecuados por Wagner (1968). Los niveles de significación obtenidos tras la realización de la prueba de KOLMOGOROV-SMIROV son elevados, siendo algo inferiores los correspondientes al AUC y al  $V_z/F$ .

En la Tabla 64, se exponen los valores de concentración plasmática de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacino, obtenidos tras la administración intravenosa de 15 mg/kg de peso de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% a cabras. En todos los casos, se observa como se empiezan a detectar concentraciones de ciprofloxacino en plasma a partir de las 0,5 horas (excepto en la Cabra 2, que se detecta a las 0,75 horas). La concentración del fármaco sigue una evolución semejante a lo largo del tiempo, aumentando en la mayoría de los animales hasta aproximadamente las 4-6 horas, y descendiendo posteriormente de una manera gradual, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 24-32 horas tras la administración del enrofloxacino, con excepción de la cabra 5 en la que el último valor de concentración plasmática detectable fue a las 48 horas de la administración.

Las representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino obtenidas en cada animal tras la administración intravenosa de enrofloxacino se muestran en los Gráficos 56 a 60, y la de los valores medios de las concentraciones plasmáticas ( $\text{media} \pm \text{SD}$ ), a los distintos tiempos de extracción, aparece en el Gráfico 61. Así mismo, en el Gráfico 62, aparece la representación semilogarítmica de los citados valores ( $\text{media} \pm \text{SD}$ ).

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, junto con los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 65. Los coeficientes de variación obtenidos son bajos, comprendiendo un valor mínimo de 13,91% y un máximo de 48,34%.

Para la confirmación de la homogeneidad de los datos se realizó un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV entre todos los valores de concentración plasmática de ciprofloxacino, obtenidos en los diferentes animales para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este test se muestran en la Tabla 66, donde puede apreciarse que el nivel de significación es muy elevado para todos los tiempos de extracción, a excepción de las 1 y 2 horas, que son inferiores.

Como en ocasiones anteriores, se ha realizado un ajuste de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino obtenidas experimentalmente en cada

uno de los animales a modelos farmacocinéticos lineales mono y bicompartimentales, mediante regresión no lineal, utilizando el programa de análisis farmacocinético WINNONLIN Professional<sup>®</sup> (versión 5.0), sin ponderación de los datos y con ponderación de los datos, obteniéndose mejores resultados cuando se ponderaban las concentraciones. Los valores obtenidos de AIC nos permite concluir que los datos obtenidos presentan un mejor ajuste a un modelo monocompartimental.

En la Tabla 67, se muestran los parámetros farmacocinéticos correspondientes a un ajuste monocompartimental y no compartimental, para cada uno de los animales y para las concentraciones medias. Los valores medios de dichos parámetros, así como los estadísticos de desviación aparecen en la Tabla 68, en la cual se observa como los coeficientes de variación son inferiores al 60,84%, por debajo del valor señalado por Wagner (1968) como normal.

Al igual que en enrofloxacin, para concretar la idoneidad de los datos, se ha realizado una prueba de KOLMOGOROV-SMIRNOV, cuyos resultados se muestran en la Tabla 69. Los resultados obtenidos muestran unos niveles de significación muy elevados en todos los parámetros, siendo inferior para la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), comprobándose una homogeneidad de los datos.

En la Tabla 70, se detallan los resultados de los valores en tanto por ciento de las ratio del metabolito ciprofloxacino para cada animal y para los valores medios, calculados mediante el cociente entre el AUC de ciprofloxacino y el AUC del enrofloxacin.

En el Grafico 63, se representan los valores medios de concentraciones plasmáticas (media  $\pm$  SD) de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacino, en el que las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin son superiores a las de su metabolito activo, en todos los tiempos de extracción, siendo detectable enrofloxacin hasta las 120 horas tras su administración. Ciprofloxacino se detecta hasta las 32 horas posteriores a la administración de enrofloxacin. Igualmente, en el Gráfico 64, aparece la representación semilogarítmica de los citados valores (media  $\pm$  SD).

#### **4.5.- COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ENROFLOXACINO Y SU METABOLITO ACTIVO, CIPROFLOXACINO, TRAS SU ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA, SUBCUTÁNEA, SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% Y SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2%.**

Los valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos, compartimentales y no compartimentales, de enrofloxacinó tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso de enrofloxacinó vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y de 15 mg/kg de peso de enrofloxacinó vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) aparecen reflejados en la Tabla 71.

La representación gráfica de los valores medios (media  $\pm$  SD) experimentales de concentración obtenidos a los distintos tiempos de extracción tras la administración de enrofloxacinó por las vías IV, SC, SC1 y SC2, aparece en el Gráfico 65, y en el Gráfico 66 aparece la representación semilogarítmica de dichos valores medios (media  $\pm$  SD).

Se ha querido representar gráficamente los valores medios (media  $\pm$  SD) experimentales de concentración obtenidos a los distintos tiempos de extracción tras la administración de enrofloxacinó por las vías extravasculares: SC, SC1 y SC2, así como su representación semilogarítmica (Gráficos 67 y 68, respectivamente).

Para verificar la existencia de diferencias significativas entre las administraciones de enrofloxacinó vía IV, SC, SC1 y SC2, se ha realizado un estudio estadístico paramétrico (t de Student) a los parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el análisis compartimental y no compartimental. Los resultados de este estudio se muestran en la Tabla 72.

Al comparar las vías de administración IV y SC, se observa la existencia de diferencias significativas entre diversos parámetros farmacocinéticos. Así, existen diferencias estadísticamente significativas entre la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el área bajo la curva (AUC) y el tiempo medio de residencia (MRT).

La comparación de las vías IV y SC1, e IV y SC2, pone de manifiesto la existencia de diferencias significativas entre 1) la semivida de eliminación del fármaco ( $t_{1/2\lambda_z}$ ), 2) la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), 3) el área bajo la curva (AUC) y 4) el tiempo medio de residencia (MRT).

También se ha realizado la comparación entre las tres administraciones por vía extravascular: SC, SC1 y SC2. Como se puede observar, en la Tabla 72, existen diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) para los siguientes parámetros farmacocinéticos:

- Comparación entre las vías SC y SC1: la constante aparente de absorción ( $k_a$ ), la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo medio de residencia (MRT) y el tiempo medio de absorción (MAT).
- Comparación entre las vías SC y SC2: existen diferencias significativas entre todos los principales parámetros farmacocinéticos estudiados: la semivida de eliminación del fármaco ( $t_{1/2\lambda_z}$ ), la constante aparente de absorción ( $k_a$ ), la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ), el área bajo la curva (AUC), el tiempo medio de residencia (MRT), el tiempo medio de absorción (MAT) y la biodisponibilidad (F).
- Comparación entre las vías SC1 y SC2: la semivida de eliminación del fármaco ( $t_{1/2\lambda_z}$ ), el tiempo medio de residencia (MRT) y el tiempo medio de absorción (MAT).

Al igual que con el enrofloxacin, en la Tabla 73 se muestran los valores medios de los principales parámetros estudiados del metabolito activo de enrofloxacin, ciprofloxacino, tras la administración intravenosa de 5 mg/kg de enrofloxacin vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y tras la administración de 15 mg/kg de enrofloxacin vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2).

La representación gráfica de los valores medios (media  $\pm$  SD) experimentales de concentración de ciprofloxacino obtenidos a los distintos tiempos de extracción tras la administración de enrofloxacin por las vías IV, SC, SC1 y SC2, aparece en el Gráfico 69. También se ha realizado la representación semilogarítmica de dichos valores medios (media  $\pm$  SD), que aparecen en el Gráfico 70.

Igualmente, se ha realizado un estudio estadístico paramétrico (t de Student) a los parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el análisis compartimental y no compartimental para el ciprofloxacino, para ver la existencia o no de diferencias significativas entre las distintas administraciones, cuyos resultados se muestran en la Tabla 74.

La comparación de las vías de administración IV y SC, nos permite observar la existencia de diferencias significativas entre la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ), la semivida de formación del metabolito ciprofloxacino ( $t_{1/2kf}$ ) y el tiempo medio de residencia (MRT).

La comparación de las vías IV y SC1, e IV y SC2, pone de manifiesto la existencia de diferencias significativas entre todos los parámetros estudiados, a excepción de el área bajo la curva (AUC) en el caso de IV-SC1 y la ratio de metabolito (MR), en ambos.

Del mismo modo se ha realizado la comparación entre las tres administraciones por vía extravascular: SC, SC1 y SC2. Como se puede observar, en la Tabla 74, existen diferencias significativas para los siguientes parámetros farmacocinéticos:

- Comparación entre las vías SC y SC1: la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ), la semivida de eliminación del fármaco ( $t_{1/2\lambda z}$ ) y el tiempo medio de residencia (MRT).
- Comparación entre las vías SC y SC2: la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ), la semivida de eliminación del fármaco ( $t_{1/2\lambda z}$ ), el área bajo la curva (AUC) y el tiempo medio de residencia (MRT).
- Comparación entre las vías SC1 y SC2: la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ) y el área bajo la curva (AUC).



#### **4.6.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE ENROFLOXACINO Y SU METABOLITO ACTIVO CIPROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE ENROFLOXACINO.**

Las concentraciones experimentales de enrofloxacin, obtenidas en la leche de los animales tratados con una dosis intravenosa de 5 mg/kg de peso, se muestran en la Tabla 75. Como se puede observar, las concentraciones del fármaco en leche son detectables hasta las 24-32 horas, si bien, en la cabra 4 se puede detectar dicho fármaco hasta las 48 horas.

En la Tabla 76, aparecen los valores medios de concentración de enrofloxacin en leche y sus estadísticos de desviación, observándose coeficientes de variación que, en ningún caso superan el 75%.

La homogeneidad de los datos se ha comprobado mediante la realización del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV a todos los valores de concentración de enrofloxacin en leche, obtenidos para los diferentes animales, para un mismo tiempo de ordeño. Los resultados de este análisis, se muestran en la Tabla 77. Como se puede observar en dicha Tabla, los niveles de significación son en general elevados, para todos los tiempos, a excepción de las 4 y 6 horas que son algo inferiores, si bien, en la Tabla 76 se muestran estos tiempos de ordeño, los cuales presentan un coeficiente de variación que no supera el 30%. Por tanto, queda comprobado el ajuste de los datos a la distribución normal, y por consiguiente, su homogeneidad.

En la Tabla 78, se muestran las cantidades de enrofloxacin, en  $\mu\text{g}$ , excretadas en leche para cada animal y sus concentraciones medias, para los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración intravenosa de 5 mg/kg de peso de enrofloxacin.

Se han calculado los parámetros farmacocinéticos no compartimentales para cada cabra y para sus concentraciones medias, mediante el programa WINNONLIN Professional® (Versión 5.0), los cuales aparecen reflejados en la Tabla 79. En esta Tabla aparecen los parámetros no compartimentales siguientes: la concentración máxima de fármaco en leche ( $C_{\text{máx}}$ ), el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{\text{máx}}$ ), el área bajo la curva de concentración en leche-tiempo (AUC) y el tiempo medio de residencia (MRT). Además, en esta Tabla se muestran los ratios  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ ,  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  de enrofloxacin, obtenidos a partir de

parámetros farmacocinéticos no compartimentales, así como el porcentaje de excreción en leche de enrofloxacino.

En la Tabla 80 se presentan los valores medios de los parámetros mostrados en la Tabla 79, junto a los estadísticos de desviación. Se puede observar como los coeficientes de variación no superan en ningún caso el 48%.

El ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos, se ha comprobado mediante la realización de un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 81). Se pueden observar niveles de significación elevados, excepto para el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{m\acute{a}x}$ ), si bien su coeficiente de variación es del 34,23% (Tabla 80).

La Tabla 82 muestra las concentraciones experimentales del metabolito activo de enrofloxacino, ciprofloxacino, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso de enrofloxacino. Como se puede observar, las concentraciones de ciprofloxacino en leche se pueden detectar hasta las 24-32 horas de la administración del enrofloxacino.

Los valores medios de concentración de ciprofloxacino en leche así como sus estadísticos de desviación, vienen reflejados en la Tabla 83, en la que se observa como los coeficientes de variación son algo superiores a los obtenidos para el enrofloxacino (Tabla 76), aunque el valor máximo es de 56,17%, inferior al 75% indicado como normal para Wagner (1968).

Al aplicar el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, para ver la homogeneidad de los datos, se observan niveles de significación muy elevados (Tabla 84). De esta forma queda demostrado el buen ajuste de los datos a la distribución normal, y por consiguiente su homogeneidad.

En la Tabla 85, se reflejan las cantidades de ciprofloxacino, en  $\mu\text{g}$ , excretadas en leche para cada animal y sus concentraciones medias, para los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso de enrofloxacino.

Al igual que en el enrofloxacino, se calcularon los parámetros farmacocinéticos no compartimentales para cada cabra y para sus concentraciones medias, así como los ratios  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ ,  $C_{m\acute{a}x\text{-leche}}/C_{m\acute{a}x\text{-plasma}}$  de ciprofloxacino obtenidos a partir de dichos parámetros, y el porcentaje de excreción en leche de ciprofloxacino, los cuales se

muestran en la Tabla 86. Los valores medios de dichos parámetros y sus estadísticos de desviación se reflejan en la Tabla 87, obteniéndose valores de coeficientes de variación que no superan el 75% descrito por Wagner (1968), siendo el valor más elevado el correspondiente al porcentaje de excreción (58,16%).

Por último, se ha aplicado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, a los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de las concentraciones en leche, obteniéndose niveles de significación elevados (Tabla 88), excepto para el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{m\acute{a}x}$ ), como ocurría en el enrofloxacino, el porcentaje de excreción y el tiempo medio de residencia (MRT), los cuales tienen unos coeficientes de variación adecuados como se puede comprobar en la Tabla 87.

En el Gráfico 71 se representan los valores medios de concentración de enrofloxacino (media  $\pm$  SD), así como los valores medios de concentración de su metabolito activo, ciprofloxacino (media  $\pm$  SD), en leche, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino. Esos mismos valores se representan junto a las concentraciones medias plasmáticas (media  $\pm$  SD), tanto de enrofloxacino como de ciprofloxacino, obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino, en los Gráficos 77 y 81, respectivamente. En el Gráfico 81, se puede observar como las concentraciones en leche de ciprofloxacino son superiores a las plasmáticas y se mantienen durante un periodo de tiempo más prolongado, concretamente 32 horas en leche, frente a las 12 horas en plasma.

#### **4.7.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE ENROFLOXACINO Y SU METABOLITO ACTIVO CIPROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO.**

En la Tabla 89, se muestran las concentraciones experimentales de enrofloxacin, obtenidas en la leche de los animales tratados con una dosis subcutánea de 5 mg/kg de peso. Las concentraciones del fármaco en leche son detectables hasta las 32 horas, con excepción de la cabra 1, en la que sólo se puede detectar dicho fármaco hasta las 12 horas.

Los valores medios de concentración de enrofloxacin en leche y sus estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 90. En ella se observan coeficientes de variación que, salvo a las 8 horas, no superan el 75% descrito por Wagner (1968).

La homogeneidad de los datos se ha comprobado mediante la realización del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV a todos los valores de concentración de enrofloxacin en leche, obtenidos para los diferentes animales, para un mismo tiempo de ordeño. Los resultados de este análisis, se muestran en la Tabla 91. Como se puede observar en dicha Tabla, los niveles de significación son muy elevados, para todos los tiempos. Por tanto, queda comprobado el ajuste de los datos a la distribución normal, y por consiguiente, su homogeneidad.

Las cantidades de enrofloxacin, en  $\mu\text{g}$ , excretadas en leche para cada animal y tiempo de ordeño, y para las concentraciones medias, tras la administración subcutánea de 5 mg/kg de peso de enrofloxacin se reflejan en la Tabla 92.

En la Tabla 93, aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales para cada cabra y para sus concentraciones medias. Los parámetros farmacocinéticos no compartimentales, al igual que para la vía intravenosa, son los siguientes: la concentración máxima de fármaco en leche ( $C_{\text{máx}}$ ), el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{\text{máx}}$ ), el área bajo la curva de concentración en leche-tiempo (AUC) y el tiempo medio de residencia (MRT). Además, en esta Tabla se muestran los ratios  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ ,  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  de enrofloxacin obtenidos a partir de parámetros farmacocinéticos no compartimentales, así como el porcentaje de excreción en leche de enrofloxacin.

Asimismo, en la Tabla 94 se presentan los valores medios de los parámetros calculados anteriormente, junto a los estadísticos de desviación. Se puede observar como los coeficientes de variación no superan en ningún caso el 75%, oscilando entre el 20,05% y el 45,60%.

Para ver la homogeneidad de los datos se ha aplicado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, cuyos resultados se muestran en la Tabla 95. Se pueden observar niveles de significación muy elevados, excepto para el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{\text{máx}}$ ), si bien su coeficiente de variación es del 34,23% (Tabla 94), como ocurría con la vía intravenosa.

En la Tabla 96 aparecen reflejadas las concentraciones experimentales excretadas en leche del metabolito activo de enrofloxacin, ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de peso de enrofloxacin. Como se puede observar, las concentraciones de ciprofloxacino en leche se pueden detectar hasta las 24-32 horas de la administración del enrofloxacin, al igual que ocurría para la vía intravenosa.

Los valores medios de concentración de ciprofloxacino en leche así como sus estadísticos de desviación, vienen reflejados en la Tabla 97. En ella se observan coeficientes de variación inferiores al 40,22%, con la excepción de las concentraciones obtenidas a las 24 horas, que muestran una mayor variabilidad, superando el 75% indicado como normal para Wagner (1968).

Al aplicar el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, para ver la homogeneidad de los datos, se observan niveles de significación muy elevados (Tabla 98), excepto a las 2 horas, que presenta un nivel de significación inferior. Así, queda demostrado el ajuste de los datos a la distribución normal, y su homogeneidad.

Las cantidades de ciprofloxacino, en  $\mu\text{g}$ , excretadas en leche para cada animal y sus concentraciones medias, para los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de peso de enrofloxacin, se reflejan en la Tabla 99.

Se han calculado los parámetros farmacocinéticos no compartimentales para cada cabra, así como los ratios  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ ,  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  de ciprofloxacino obtenidos a partir de dichos parámetros, y el porcentaje de excreción en leche de ciprofloxacino, los cuales se muestran en la Tabla 100. En la Tabla 101 se

presentan los valores medios de dichos parámetros, junto a los estadísticos de desviación, pudiendo observarse valores de coeficientes de variación que no superan el 55,57%.

Al igual que en situaciones anteriores, se ha aplicado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, a los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de las concentraciones en leche, obteniéndose niveles de significación elevados, siendo algo inferiores para el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y para la ratio  $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$ . Estos resultados vienen reflejados en la Tabla 102.

En el Gráfico 72 se representan los valores medios de concentración de enrofloxacino (media  $\pm$  SD), así como los valores medios de concentración de su metabolito activo, ciprofloxacino (media  $\pm$  SD), en leche, tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino. Esos mismos valores se representan junto a las concentraciones medias plasmáticas (media  $\pm$  SD), tanto de enrofloxacino como de ciprofloxacino, obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino, en los Gráficos 78 y 82, respectivamente. Como podemos observar en el Gráfico 82, las concentraciones en leche de ciprofloxacino son superiores a las plasmáticas y se mantienen durante un periodo de tiempo más prolongado, concretamente 32 horas en leche, frente a las 12 horas en plasma, como ocurría con la vía intravenosa.

#### **4.8.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE ENROFLOXACINO Y SU METABOLITO ACTIVO CIPROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25%.**

Las concentraciones experimentales de enrofloxacin, obtenidas en leche de los animales tras una administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de peso de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25%, se muestran en la Tabla 103. Como se puede observar, se pueden detectar concentraciones de enrofloxacin en leche hasta las 72-96 horas de su administración, si bien, en la cabra 1 y 2 se detectaron concentraciones hasta las 48 y 24 horas, respectivamente.

En la Tabla 104, aparecen los valores medios de concentración de enrofloxacin en leche y sus estadísticos de desviación, observándose coeficientes de variación que, en ningún caso superan el 75%, excepto el tiempo de extracción correspondiente a las 32 horas que supera el límite máximo establecido como normal por Wagner (1968).

La homogeneidad de los datos se ha comprobado mediante la realización del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV a todos los valores de concentración de enrofloxacin en leche, obtenidos para los diferentes animales, para un mismo tiempo de ordeño. Los resultados de este análisis, se muestran en la Tabla 105. Como se puede observar en dicha Tabla, los niveles de significación son elevados, para todos los tiempos de extracción. Por tanto, queda comprobado el ajuste de los datos a la distribución normal, y por consiguiente, su homogeneidad.

En la Tabla 106, se muestran las cantidades de enrofloxacin en  $\mu\text{g}$ , excretadas en leche para cada animal y sus concentraciones medias, para los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración subcutánea de 15 mg/kg de peso de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25%.

Se han calculado los parámetros farmacocinéticos no compartimentales para cada cabra y para sus concentraciones medias, los cuales aparecen reflejados en la Tabla 107. En esta Tabla aparecen los parámetros no compartimentales siguientes: la concentración máxima de fármaco en leche ( $C_{\text{máx}}$ ), el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{\text{máx}}$ ), el área bajo la curva de concentración en leche-tiempo (AUC) y el tiempo medio de residencia (MRT). Además, en esta Tabla se

muestran los ratios  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ ,  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  de enrofloxacino obtenidos a partir de parámetros farmacocinéticos no compartimentales, así como el porcentaje de excreción en leche de enrofloxacino.

En la Tabla 108 se presentan los valores medios de los parámetros mostrados en la Tabla 107, junto a los estadísticos de desviación. Se puede observar como los coeficientes de variación no superan el 75% descrito como normal por Wagner (1968), oscilando entre el 15,97% y el 42,49%.

El ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos, se ha comprobado mediante la realización de un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 109). Se pueden observar niveles de significación elevados, excepto para el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{\text{máx}}$ ), como ocurre en las anteriores vías de administración, si bien su coeficiente de variación es del 15,97% (Tabla 108).

La Tabla 110 muestra las concentraciones experimentales del metabolito activo de enrofloxacino, ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de peso de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%. Como se puede observar, las concentraciones de ciprofloxacino en leche se pueden detectar hasta las 48-72 horas de la administración del enrofloxacino, si bien, en la cabra 1 el último tiempo de ordeño en el que se detectan concentraciones de ciprofloxacino corresponde a las 32 horas.

Los valores medios de concentración de ciprofloxacino en leche así como sus estadísticos de desviación, vienen reflejados en la Tabla 111, en la que se observa como los coeficientes de variación son inferiores al 75%, excepto a las 2 horas que presenta un coeficiente de variación superior.

Se ha aplicado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, para ver la homogeneidad de los datos. Los resultados se reflejan en la Tabla 112, en la que se observan niveles de significación muy elevados, excepto el correspondiente a las 2 horas que es algo inferior, coincidiendo como se refleja en la Tabla 111, con el tiempo que presenta un coeficiente de variación más elevado que supera el 75%. Así, queda demostrado el buen ajuste de los datos a la distribución normal, y por consiguiente su homogeneidad para la mayoría de los tiempos.

En la Tabla 113, se reflejan las cantidades de ciprofloxacino, en  $\mu\text{g}$ , excretadas en leche para cada animal y sus concentraciones medias, para los diferentes tiempos de



ordeño, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de peso de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%.

Al igual que en el enrofloxacino, se calcularon los parámetros farmacocinéticos no compartimentales para cada cabra y para sus concentraciones medias, así como los ratios  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ ,  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  de ciprofloxacino obtenidos a partir de dichos parámetros, y el porcentaje de excreción en leche de ciprofloxacino, los cuales se muestran en la Tabla 114. Los valores medios de dichos parámetros y sus estadísticos de desviación se reflejan en la Tabla 115, obteniéndose valores de coeficientes de variación que no superan el 75% descrito por Wagner (1968), siendo el valor más elevado el correspondiente al porcentaje de excreción (55,70%).

Por último, se ha aplicado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, a los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de las concentraciones en leche, obteniéndose niveles de significación muy elevados (Tabla 116), excepto para el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{\text{máx}}$ ), el cual tiene un coeficiente de variación del 12,89%, como se puede comprobar en la Tabla 115.

En el Gráfico 73 se representan los valores medios de concentración de enrofloxacino (media  $\pm$  SD), así como los valores medios de concentración de su metabolito activo, ciprofloxacino (media  $\pm$  SD), en leche, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%. Esos mismos valores se representan junto a las concentraciones medias plasmáticas (media  $\pm$  SD), tanto de enrofloxacino como de ciprofloxacino, obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%, en los Gráficos 79 y 83, respectivamente. En el Gráfico 83, se puede observar como las concentraciones en leche de ciprofloxacino son superiores a las plasmáticas y se mantienen durante un periodo de tiempo más prolongado, concretamente 72 horas en leche, frente a las 32 horas en plasma.

#### **4.9.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE ENROFLOXACINO Y SU METABOLITO ACTIVO CIPROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2%.**

En la Tabla 117, se muestran las concentraciones experimentales de enrofloxacin, obtenidas en la leche de los animales tratados con una dosis subcutánea de 15 mg/kg de peso en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%. Como se puede observar, las concentraciones del fármaco en leche son detectables hasta las 96-120 horas tras la administración del enrofloxacin.

Los valores medios de concentración de enrofloxacin en leche junto con sus estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 118. En ella se observan coeficientes de variación muy bajos, que no superan el 75% descrito por Wagner (1968).

La homogeneidad de los datos se ha comprobado mediante la realización del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV a todos los valores de concentración de enrofloxacin en leche, obtenidos para los diferentes animales, para un mismo tiempo de ordeño. Los resultados de este análisis, se muestran en la Tabla 119. Como se refleja en dicha Tabla, los niveles de significación son muy elevados, para todos los tiempos. Por tanto, queda comprobado el ajuste de los datos a la distribución normal, y por consiguiente, su homogeneidad.

Las cantidades de enrofloxacin, en  $\mu\text{g}$ , excretadas en leche para cada animal y tiempo de ordeño, y para las concentraciones medias, tras la administración subcutánea de 15 mg/kg de peso de enrofloxacin en solución del polímero P407 + carboximetilcelulosa al 2%, se reflejan en la Tabla 120.

En la Tabla 121, aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales para cada cabra y para sus concentraciones medias. Los parámetros farmacocinéticos no compartimentales, al igual que para las situaciones anteriores, son los siguientes: la concentración máxima de fármaco en leche ( $C_{\text{máx}}$ ), el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{\text{máx}}$ ), el área bajo la curva de concentración en leche-tiempo (AUC) y el tiempo medio de residencia (MRT). Además, en esta Tabla se muestran los ratios  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ ,  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  de enrofloxacin obtenidos

a partir de parámetros farmacocinéticos no compartimentales, así como el porcentaje de excreción en leche de enrofloxacino.

Asimismo, en la Tabla 122 se presentan los valores medios de los parámetros calculados anteriormente, junto a los estadísticos de desviación. Se puede observar como los coeficientes de variación no superan en ningún caso el 75%, oscilando entre el 12,95% y el 43,72%.

Para ver la homogeneidad de los datos se ha aplicado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, cuyos resultados se muestran en la Tabla 123. Como se observa, se obtienen niveles de significación muy elevados.

En la Tabla 124 aparecen reflejadas las concentraciones experimentales del metabolito activo de enrofloxacino, ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de peso de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%. Como se puede observar, las concentraciones de ciprofloxacino en leche se pueden detectar hasta las 72-96 horas de la administración del enrofloxacino.

Los valores medios de concentración de ciprofloxacino en leche así como sus estadísticos de desviación, vienen reflejados en la Tabla 125. En ella se observan coeficientes de variación inferiores al 51,89%, con la excepción de las concentraciones obtenidas en la primera hora, que muestra una mayor variabilidad, sin superar el 75% indicado como normal para Wagner (1968).

Al aplicar el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, para ver la homogeneidad de los datos, se observan niveles de significación muy elevados (Tabla 126), excepto a las 48 horas, que presenta un nivel de significación algo inferior. Así, queda demostrado el ajuste de los datos a la distribución normal, y su homogeneidad.

Las cantidades de ciprofloxacino excretadas en leche, en  $\mu\text{g}$ , para cada animal y sus concentraciones medias, y para los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de peso de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, se reflejan en la Tabla 127.

Se han calculado los parámetros farmacocinéticos no compartimentales para cada cabra, así como los ratios  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ ,  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  de ciprofloxacino obtenidos a partir de dichos parámetros, y el porcentaje de excreción en

leche de ciprofloxacino, los cuales se muestran en la Tabla 128. En la Tabla 129 se presentan los valores medios de dichos parámetros, junto a los estadísticos de desviación, pudiendo observarse valores de coeficientes de variación que no superan el 62,06% correspondiente al porcentaje de excreción en leche de ciprofloxacino.

Para ver la homogeneidad de los datos, se ha aplicado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, a los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de las concentraciones de ciprofloxacino en leche, obteniéndose niveles de significación elevados, siendo algo inferiores para el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y para la concentración máxima de fármaco en leche ( $C_{m\acute{a}x}$ ). Estos resultados vienen reflejados en la Tabla 130.

En el Gráfico 74 se representan los valores medios de concentración de enrofloxacino (media  $\pm$  SD), así como los valores medios de concentración de su metabolito activo, ciprofloxacino (media  $\pm$  SD), en leche, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%. Esos mismos valores se representan junto a las concentraciones medias plasmáticas (media  $\pm$  SD), tanto de enrofloxacino como de ciprofloxacino, obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, en los Gráficos 80 y 84, respectivamente. Como podemos observar en el Gráfico 84, las concentraciones en leche de ciprofloxacino son superiores a las plasmáticas y se mantienen durante un periodo de tiempo más prolongado, concretamente 96 horas en leche, frente a las 32 horas en plasma.

#### **4.10.- COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ENROFLOXACINO Y SU METABOLITO ACTIVO, CIPROFLOXACINO, DE LA LECHE TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE ENROFLOXACINO VÍA INTRAVENOSA, SUBCUTÁNEA, SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% Y SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2%.**

En la Tabla 131, vienen reflejados los valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos no compartimentales, de enrofloxacinó obtenidos para la leche, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacinó vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacinó vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2).

La representación gráfica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de enrofloxacinó excretadas en leche obtenidas a los distintos tiempos de extracción tras la administración de enrofloxacinó por las vías IV, SC, SC1 y SC2, aparece en el Gráfico 75.

Se ha realizado un análisis estadístico paramétrico, t de Student, a los parámetros farmacocinéticos no compartimentales de la leche, obtenidos mediante su correspondiente análisis no compartimental, para verificar la existencia de diferencias significativas entre las administraciones de enrofloxacinó vía IV, SC, SC1 y SC2. Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla 132.

La comparación de las vías de administración IV y SC, muestra la existencia de diferencias significativas entre un el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y la ratio  $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$ .

La comparación de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales de la leche, para las vías IV y SC1, e IV y SC2, pone de manifiesto la existencia de diferencias significativas entre la concentración máxima en leche ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo medio de residencia (MRT), la ratio  $AUC_{leche}/AUC_{plasma}$  y el porcentaje de excreción del fármaco en leche.

Además, entre la vía IV y SC1, existen diferencias significativas entre la ratio  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$ .

Al igual que ocurría con el plasma, se ha realizado la comparación de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales en leche entre para las tres vías extravasculares: SC, SC1 y SC2. Como se puede observar, en la Tabla 132, existen diferencias significativas para los siguientes parámetros farmacocinéticos:

- Comparación entre las vías SC y SC1: la concentración máxima en leche ( $C_{\text{máx}}$ ), el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{\text{máx}}$ ), el tiempo medio de residencia (MRT) y el porcentaje de excreción.
- Comparación entre las vías SC y SC2: la concentración máxima en leche ( $C_{\text{máx}}$ ), el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{\text{máx}}$ ) y el tiempo medio de residencia (MRT).
- Comparación entre las vías SC1 y SC2: el tiempo medio de residencia (MRT) y la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ .

En la Tabla 133 se muestran los valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos estudiados del metabolito activo de enrofloxacin, ciprofloxacino, obtenidos para la leche, tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2).

La representación gráfica de las concentraciones medias (media  $\pm$  SD) experimentales de ciprofloxacino excretadas en leche a los distintos tiempos de extracción tras la administración de enrofloxacin por las vías IV, SC, SC1 y SC2, aparece en el Gráfico 76.

Igualmente, se ha realizado un estudio estadístico paramétrico (t de Student) a los parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el análisis no compartimental para el ciprofloxacino, para ver la existencia o no de diferencias significativas entre las distintas administraciones, cuyos resultados se muestran en la Tabla 134.

La comparación de las vías de administración IV y SC, nos permite observar la existencia de diferencias significativas entre el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo medio de residencia (MRT) y la ratio  $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$ .

La comparación de las vías IV y SC1, e IV y SC2, pone de manifiesto la existencia de diferencias significativas entre la concentración máxima en leche ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y el tiempo medio de residencia (MRT). Además, existen diferencias estadísticamente significativas entre la vía IV y SC2, respecto a la ratio  $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$ .

Del mismo modo se ha realizado la comparación entre las tres administraciones por vía extravascular: SC, SC1 y SC2. Como se puede observar, en la Tabla 134, existen diferencias significativas para los siguientes parámetros farmacocinéticos:

- Comparación entre las vías SC y SC1: la concentración máxima en leche ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{m\acute{a}x}$ ), el área bajo la curva de concentración en leche-tiempo (AUC), el tiempo medio de residencia (MRT) y la ratio  $AUC_{leche}/AUC_{plasma}$ .
- Comparación entre las vías SC y SC2: la concentración máxima en leche ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche ( $T_{m\acute{a}x}$ ) y el tiempo medio de residencia (MRT).
- Comparación entre las vías SC1 y SC2: no existen diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los parámetros.

#### **4.11.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS FARMACODINÁMICOS OBTENIDOS FRENTE A CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS.**

En la Tabla 135 se muestran las concentraciones mínimas inhibitorias ( $\mu\text{g/mL}$ ) de enrofloxacin obtenidas frente a 14 aislados de campo y 2 cepas patrón de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922, de cabras lactantes con infecciones intramamarias.

Como ya se ha mencionado en la revisión bibliográfica, entre los parámetros farmacocinético–farmacodinámicos (PK-PD) que predicen una mejor eficacia y una menor aparición de resistencias se encuentran el AUC/CMI y  $C_{\text{máx}}/\text{CMI}$ . Estos parámetros calculados para cada animal, vía subcutánea a una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin y a 2 niveles de sensibilidad a enrofloxacin, de los aislados de *Staphylococcus aureus* en cabra, se muestran en la Tabla 136. Además, se muestran los valores de las ratios de enrofloxacin corregidos a una dosis de 5 mg/kg en el caso de las dos administraciones con polímero.

Finalmente, en la Tabla 137 se ponen de manifiesto la media y la desviación estándar de dichos parámetros farmacocinético-farmacodinámicos.

Al igual que con el enrofloxacin, se han obtenido las concentraciones mínimas inhibitorias ( $\mu\text{g/mL}$ ) para ciprofloxacino frente a 14 aislados de campo y 2 cepas patrón de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922, de cabras lactantes con infecciones intramamarias. Estas concentraciones mínimas inhibitorias se reflejan en la Tabla 138.

Asimismo, se han calculado las relaciones AUC/CMI y  $C_{\text{máx}}/\text{CMI}$  para el ciprofloxacino y para cada animal, vía subcutánea tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin y a 2 niveles de sensibilidad a ciprofloxacino, de los aislados de *Staphylococcus aureus* en cabra, la cuales se muestran en la Tabla 139. Igualmente, se incluyen las ratios de ciprofloxacino corregidos a una dosis de 5 mg/kg en el caso de las dos administraciones con polímero.



En la Tabla 140 se muestran los valores medios junto con la desviación estándar de los parámetros farmacocinéticos-farmacodinámicos anteriormente mencionados para cada vía de administración.

## **5.- DISCUSIÓN**

## **5.1.- ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE ENROFLOXACINO EN CABRAS.**

### **5.1.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.**

La evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino a una dosis de 5 mg/kg en cabras, se ha ajustado a los modelos farmacocinéticos mono- y bicompartimentales con y sin ponderación de los datos experimentales obtenidos para cada animal y para sus correspondientes concentraciones medias.

A la hora de decidir cuál de dichos modelos es el más idóneo, se ha tenido en cuenta un coeficiente no lineal conocido como Criterio de Información de Akaike o AIC (Yamaoka y cols., 1978), considerado como el principal criterio de decisión. De acuerdo a la teoría de Akaike, en un conjunto de diferentes modelos, se escoge el que tenga el menor AIC.

Teniendo en cuenta los valores más favorables de AIC (menores), se ha comprobado que la evolución de las concentraciones plasmáticas en todos los animales así como para las concentraciones medias, se ajustan a un modelo bicompartimental con ponderación. Así pues, se puede concluir que las concentraciones plasmáticas experimentales obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino en cabras, se ajustan mejor a un modelo bicompartimental abierto.

Para verificar la bondad del ajuste a un modelo bicompartimental abierto, se calcularon las concentraciones teóricas correspondientes a cada animal y las concentraciones teóricas medias a los mismos tiempos utilizados en la fase experimental, utilizando las ecuaciones correspondientes, y se ha procedido a realizar un análisis de regresión entre éstas y sus correspondientes experimentales. Los resultados de dicho estudio aparecen en la Tabla 4, en la que se comprueba que no existen diferencias significativas entre las mismas ( $p > 0,001$ ), por lo que las concentraciones teóricas son plenamente representativas del proceso y el ajuste obtenido es totalmente válido.

El modelo bicompartimental está de acuerdo con las características farmacocinéticas de las fluoroquinolonas, que presentan una buena distribución orgánica con una importante penetración a nivel intracelular (Brown, 1996). Varios estudios de administración intravenosa de enrofloxacino en cabras también obtienen un mejor ajuste del fármaco al modelo bicompartimental (Abo El-Sooud, 2003; Rao y

cols., 2002a; Rao y cols., 2002b; Muammer y cols., 2001). Otros estudios realizados tras la administración intravenosa de enrofloxacino en distintas especies animales, también ajustan a un modelo bicompartimental: ovejas (Bermingham y Papich, 2002; Rahal y cols., 2006), yeguas (Papich y cols., 2002), conejos (Broome y cols., 1991; Cabanes y cols., 1992; Muammer y cols., 2007), pollos (Anadón y cols., 1995) y cerdos (Anadón y cols., 1999).

El ajuste al modelo bicompartimental se ha obtenido en otros estudios tras la administración intravenosa de otras fluoroquinolonas a cabras: moxifloxacino (Fernández-Varón y cols., 2006a), danofloxacino (AliAbadi y Lees, 2001), marbofloxacino (Waxman y cols., 2001) y pefloxacino (Abd El-Aty y Goudah, 2002).

El modelo bicompartimental abierto fue introducido por T. Teorell en 1937 y posteriormente divulgado por J. Loo y S. Riegelman (1968). Este modelo intenta reflejar el hecho de que la distribución del fármaco en el organismo no es un proceso instantáneo. Se caracteriza por considerar al organismo compuesto por dos compartimentos, uno central correspondiente a los tejidos en los que se alcanza un rápido equilibrio en la distribución del fármaco (puede considerarse instantánea) y uno periférico que corresponde a los tejidos en los que el equilibrio en la distribución precisa un tiempo más o menos dilatado para alcanzarse (Doménech y cols., 1997). Dependiendo de que el proceso de eliminación se produzca desde el compartimento central, o desde el compartimento periférico, se obtendrán distintos modelos posibles. En nuestro caso hemos considerado que la eliminación se produce desde el compartimento central.

El modelo bicompartimental abierto tras una dosis intravenosa, viene definido por la siguiente ecuación:

$$C = C_1 \cdot e^{-\lambda_1 t} + C_z \cdot e^{-\lambda_z t} \quad (1)$$

Esta ecuación adquiere diferentes valores para cada animal (Tabla 5), es por ello que para hallar la ecuación que mejor define la evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino en la cabra, se deben llevar a cabo estudios estadísticos que permitan calcular los valores medios para cada uno de los parámetros que intervienen en la misma.

De este modo, los estadísticos correspondientes a los parámetros farmacocinéticos, deducidos a partir de las concentraciones plasmáticas experimentales, así como los resultados del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, se muestran en las Tablas 6 y 7, respectivamente.

Por consiguiente, la ecuación que define la evolución de las concentraciones plasmáticas experimentales, en la cabra tras la administración intravenosa, de una dosis única de 5 mg/kg de enrofloxacino, adquiere el siguiente valor:

$$C = 11660,9232 \cdot e^{-0,6281 t} + 218,9339 \cdot e^{-0,0766 t} \mu\text{g/L} \quad (2)$$

La representación directa de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 6), pone de manifiesto que los niveles de enrofloxacino descienden rápidamente en la fase inicial (primeros 45 minutos) y, a partir de este momento disminuyen de forma más paulatina, dando lugar a una segunda fase, que podría considerarse monoexponencial y que se mantiene hasta el final del proceso (hasta las 48 horas tras la administración).

Este hecho se aprecia más claramente al observar la representación semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 7), en las que se diferencia una fase lineal correspondiente a la parte media y final de la curva, y una fase inicial que es susceptible de descomponerse en otra recta de pendiente más pronunciada que la anterior.

La transformación de esta recta semilogarítmica, en su ecuación exponencial correspondiente, desarrolla la expresión biexponencial ya indicada en la ecuación 2. Por tanto, la desaparición de enrofloxacino del plasma de cabra, está regida por dos constantes híbridas de disposición. La primera de ellas, o constante de disposición rápida ( $\lambda_1$ ), rige fundamentalmente los procesos de distribución y la segunda o constante de disposición lenta ( $\lambda_z$ ), los procesos de eliminación. Una vez alcanzado el equilibrio en la distribución, la constante de disposición rápida ( $\lambda_1$ ), deja de tener influencia práctica, por lo que se puede asumir que la desaparición de enrofloxacino del plasma en cabras, queda determinada por la constante de la última fase o constante de disposición lenta ( $\lambda_z$ ). Por definición, el valor de  $\lambda_1$  es siempre superior al de  $\lambda_z$  (Doménech y cols., 1997).

El descenso rápido inicial de las concentraciones plasmáticas, implica una rápida distribución a los tejidos, durante la primera fase, seguida de una distribución más lenta en la siguiente, detectándose concentraciones de enrofloxacino en plasma hasta las 48 horas.

### **5.1.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.**

A continuación se van a comentar los parámetros farmacocinéticos más representativos del enrofloxacino tras su administración intravenosa a cabras. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental para cada uno de los animales y para las concentraciones medias se muestran en las Tablas 5 y 6 (modelo bicompartimental), respectivamente. En las Tablas 10 y 11 aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales del fármaco referentes a cada animal y para las concentraciones medias, respectivamente.

#### **5.1.2.1.- CONSTANTES HÍBRIDAS DE DISPOSICIÓN RÁPIDA Y LENTA.**

Las constantes  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$  se denominan macroconstantes rápida y lenta de disposición que, farmacocinéticamente, son consideradas híbridas, al englobar los procesos de distribución y eliminación del fármaco (Doménech y cols., 1997). Estas constantes son de primer orden (Pla y del Pozo, 1974).

En el presente estudio, los valores medios de estas constantes para el enrofloxacino han sido de  $0,63 \text{ h}^{-1}$  y  $0,08 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$ , respectivamente. Valores similares fueron obtenidos en un estudio realizado con orbifloxacino en cabras, concretamente  $0,66 \text{ h}^{-1}$  y  $0,17 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$ , respectivamente (Marín y cols., 2007a).

Las constantes híbridas de disposición pueden relacionarse mediante la razón  $\lambda_1/\lambda_z$ , que informa cuál de ellas controla principalmente los procesos de distribución y eliminación (Pla y Obach, 1982). Así, cuanto más elevado sea dicho cociente, tanto más bicompartimental puede considerarse la distribución del fármaco. En nuestro estudio, la relación  $\lambda_1/\lambda_z$  se ha mostrado elevada, con un valor de 9,09, indicativo de la diferencia existente entre ambas fases (Tabla 9). Este valor indica que la distribución del enrofloxacino es claramente bicompartimental y que es la constante  $\lambda_z$  la que controla

principalmente los procesos anteriormente citados, ya que los regula durante más tiempo.

Los estudios realizados con enrofloxacino administrado intravenosamente en cabras, describen valores de estas constantes superiores. En uno de ellos obtienen un valor de  $1,08 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$  y  $0,53 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_z$  (Rao y cols., 2002a), mientras que en el segundo presentan un valor de  $10,04 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$  y  $0,966 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_z$  (Rao y cols., 2002b). Un tercer estudio realizado en cabras reporta los valores de  $2,97 \text{ h}^{-1}$  y  $0,29 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$ , respectivamente (Abo El-Sooud, 2003).

En la cabra, para otras fluoroquinolonas también se han obtenido valores de estas constantes. En el caso de danofloxacino, son de  $1,46 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$  y  $0,16 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_z$  (Aliabadi y Lee, 2001). Para marbofloxacino, Waxman y cols. (2001), obtienen valores de  $0,49 \text{ h}^{-1}$  y de  $0,097 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$ , respectivamente mientras que Fernández-Varón y cols. (2006a) reportan valores de  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$  de  $7,18 \text{ h}^{-1}$  y  $0,41 \text{ h}^{-1}$ . Con pefloxacino (Abd El-Aty y Guadah., 2002) se obtienen valores similares a los de Fernández-Varón y cols. (2001), concretamente de  $6,93 \text{ h}^{-1}$  y  $0,43 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$ . Para otras quinolonas se han obtenidos los siguientes valores de  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$ : para ibafloxacino  $2 \text{ h}^{-1}$  y  $0,19 \text{ h}^{-1}$ , respectivamente (Marín y cols., 2007b) y para difloxacino,  $0,92 \text{ h}^{-1}$  y  $0,14 \text{ h}^{-1}$ , respectivamente (Marín y cols., 2007c).

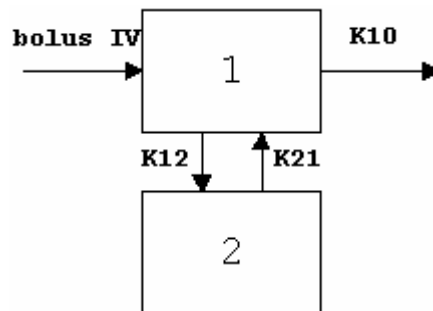
En ovejas, el enrofloxacino presenta un valor para  $\lambda_1$  de  $0,55 \text{ h}^{-1}$  y para  $\lambda_z$  de  $0,13 \text{ h}^{-1}$ , inferior y superior, respectivamente, al obtenido en nuestro estudio (Bermingham y Papich, 2002). Sin embargo, en otro estudio realizado por Rahal y cols. (2006), obtienen unos resultados superiores, de  $7,33 \text{ h}^{-1}$  y  $0,31 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$ , respectivamente.

### 5.1.2.2.- MICROCONSTANTES.

Las constantes  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$ , no son las verdaderas constantes de distribución y eliminación, ya que ambas participan en los dos procesos, las denominadas microconstantes son las que realmente los regulan.

En el modelo bicompartimental, considerando que la eliminación del fármaco se produce desde el compartimento central, existen tres microconstantes: la constante de transferencia del compartimento central al compartimento periférico ( $k_{12}$ ), la constante de retorno del compartimento periférico al central ( $k_{21}$ ) y la constante de eliminación

desde el compartimiento central ( $k_{10}$ ). Podemos observar esquemáticamente en la figura 1, los procesos de transferencia del fármaco entre los dos compartimentos, central y periférico, y el de eliminación desde el central:



**Figura 1.-** Representación esquemática del modelo bicompartimental tras la administración intravenosa de un fármaco.

En este modelo, el fármaco se distribuye instantáneamente en el compartimiento central, desde el cual pasa al compartimiento periférico de acuerdo con un proceso cinético de primer orden, regido por la constante de velocidad  $k_{12}$  y retorna hacia el compartimiento central (desde el cual se produce la eliminación, también según una cinética de primer orden regida por la constante  $k_{10}$ ). El proceso cinético de retorno, también de orden uno, viene regido por la constante  $k_{21}$  (Doménech y cols., 1997).

Los valores medios obtenidos para dichas constantes, en el caso de enrofloxacino en la cabra, son  $k_{12} = 0,07 \text{ h}^{-1}$ ,  $k_{21} = 0,08 \text{ h}^{-1}$  y  $k_{10} = 0,54 \text{ h}^{-1}$  (Tabla 6). La Tabla 5 pone de manifiesto que para cada animal la constante de eliminación desde el compartimiento central ( $k_{10}$ ) es la que adquiere un mayor valor, indicando una rápida eliminación del fármaco desde el compartimiento central, con poca distribución al compartimiento periférico. Este hecho hace que el fármaco tenga poca capacidad para acumularse o retenerse en el compartimiento periférico.

Si observamos estas constantes podemos establecer relaciones de interés que se muestran en las Tablas 8 y 9.

La relación  $\lambda_z/k_{10}$ , alcanza un valor de 0,14, y señala una eliminación global del antibiótico desde todo el organismo, regida por una constante  $\lambda_z$  inferior a la verdadera constante de eliminación ( $k_{10}$ ), lo que confirma de nuevo la adecuación de la disposición del enrofloxacino a un modelo bicompartimental.



Del estudio de la relación  $k_{12}/k_{10}$ , se obtiene un valor de 0,12. Como se puede observar, este valor es pequeño y nos indica que existe una velocidad de eliminación del fármaco del plasma, por metabolismo y excreción, muy superior a la de distribución del mismo. Que la velocidad de eliminación del fármaco sea muy superior a la de distribución, no quiere decir que el fármaco no se comporte como bicompartimental, sino que el compartimento periférico ocupa una menor parte del organismo, siendo el compartimento central el que ocupa la mayor parte del organismo. Esto es debido a la alta capacidad de penetración a través de membranas biológicas del enrofloxacino, de forma que constituyentes orgánicos (quizá agua intracelular), que normalmente se consideran parte del compartimento periférico, aquí pueden ser parte del compartimento central.

Si estudiamos la relación entre la constante de transferencia y retorno, desde el compartimento periférico  $k_{12}/k_{21}$ , esta adquiere el valor de 0,88. Este resultado indica que el fármaco accede al compartimento periférico pero retorna fácilmente del mismo al compartimento central, sin producirse retención del fármaco en dicho compartimento periférico.

Del análisis de la relación  $k_{21}/k_{10}$ , se obtiene un valor de 0,16, por lo que el retorno del fármaco, del compartimento periférico al compartimento central, no condiciona su eliminación. Esto concuerda con que no existe retención del enrofloxacino en el compartimento periférico.

En un estudio realizado con enrofloxacino en cabras, se obtuvieron valores superiores de estas microconstantes, predominando la constante de distribución desde el compartimento central al periférico ( $k_{12}$ ) y con una constante de retorno ( $k_{21}$ ) superior a la constante de eliminación ( $k_{10}$ ). Concretamente los valores obtenidos fueron de:  $k_{12} = 1,20 \text{ h}^{-1}$ ,  $k_{21} = 1,98 \text{ h}^{-1}$  y  $k_{10} = 1,88 \text{ h}^{-1}$  (Abo El-Sooud, 2003). En otros estudios realizados en cabras no se detallan valores de microconstantes.

### 5.1.2.3.- TIEMPOS DE VIDA MEDIA Y TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA.

El tiempo de vida media de la fase de disposición rápida ( $t_{1/2\lambda 1}$ ) para enrofloxacino, ha sido de 1,16 horas, y el tiempo de vida media de la fase de disposición lenta ( $t_{1/2\lambda 2}$ ), considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982) se estima en 10,44 horas (Tabla 6).

El valor del tiempo de vida media de la fase de disposición rápida de nuestro estudio es prácticamente igual al obtenido para el orbifloxacino en cabras (1,12 h; Marín y cols., 2007a). También se asemeja al obtenido en ovejas para el enrofloxacino (1,06 h; Birmingham y Papich, 2002)

El tiempo de vida media ( $t_{1/2\lambda 2}$ ) obtenido en nuestro estudio es superior al obtenido en estudios similares encontrados en cabras. Un estudio realizado en igualdad de condiciones que el nuestro, en cuanto a dosis y vía de administración, obtuvo un valor de 2,39 h (Abo El-Sooud, 2003). Rao y cols. (2002a), tras la administración de una dosis de 2,5 mg/kg de peso, reportaron valores de 0,73 h. Otro estudio presentado por estos mismos autores, Rao y cols. (2002b), tras la administración de 40 mg/kg de enrofloxacino en combinación con probenecid, obtuvo un valor de semivida de 1,37 h. En un estudio realizado por Abo El-Sooud (2003), el valor de  $t_{1/2\lambda 2}$  fue de 2,39 h. Por último, un estudio realizado en cabras angoras, en las que se administró la misma dosis que en el nuestro, presentaron un tiempo de vida media de 4 h (Muammer y cols., 2001).

Comparando con otras especies animales, el  $t_{1/2\lambda 2}$  del presente estudio, es similar al obtenido cuando se administró enrofloxacino en pollos, goral del Himalaya y cerdos: 10,29 h, 10,32 h y 9,62 h, respectivamente (Anadón y cols., 1995; Gandolf y cols., 2006; Anadón y cols., 1999).

En ovejas, se han realizado diferentes estudios con enrofloxacino que señalan  $t_{1/2\lambda 2}$  inferiores a los obtenidos en nuestro estudio: 4,77, 3,88, 2,6 y 3,77 h (Bermingham y Papich, 2002; Pozzin y cols., 1997; Rahal y cols., 2006; Mengozzi y cols., 1996). En todos los casos se administró una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino, a excepción del último, en el que se utilizó una dosis de 2,5 mg/kg.

En otras especies animales estudiadas el  $t_{1/2\lambda 2}$  fue inferior al obtenido en nuestro estudio: 2,7 y 6,6 h en terneros (Davidson y cols., 1986; Kaartinen y cols., 1997b); 3,45

y 3,73 h en cerdos (Zeng y cols., 1996; Pijpers y cols., 1997); 2,5 y 2,2 h en conejos (Broome y cols., 1991; Cabanes y cols., 1992); 5,5 y 4,4 h en caballos (Ensink y cols., 1993; Kaartinen y cols., 1997a); 1,28 h en yak (Khargharia y cols., 2008) y 2,4 h en perros (Küng y cols., 1993).

Tiempos de vida media superiores a los reportados en nuestro estudio también se han obtenido en alpacas (13,04 h, Gandolf y cols., 2005), en potros (17,10 h, Bermingham y cols., 2000) y en pollos (18,7 h, Conzelman y cols., 1987).

Respecto a otras fluoroquinolonas en cabras, se han registrado valores de  $t_{1/2\lambda z}$  inferiores a los hallados en nuestro estudio para moxifloxacino (1,94 h; Fernández-Varón y cols., 2006a), para danofloxacino (4,67; Aliabadi y Lees, 2001), para orbifloxacino (4,12 h; Marín y cols., 2007a), para ibafloxacino (3,76 h; Marín y cols., 2007b), para difloxacino (6,3 h y 4,92 h; Atef y cols., 2002; Marín y cols., 2007c), para pefloxacino (1,6 h; Abd El-Aty y Goudah, 2002), para ciprofloxacino (2,7 h; El-Banna y Abo El-Sooud, 1998) y para marbofloxacino (7,1 h; Waxman y cols., 2001). También se han encontrado valores de tiempo de vida media superiores a los de nuestro estudio, como ocurre con el ofloxacino, cuyo tiempo de vida media es de 15,55 h (Baruah y cols., 2004)

El análisis farmacocinético no compartimental permite calcular el denominado momento 1 o tiempo medio de residencia (MRT). Este parámetro es independiente del modelo farmacocinético elegido y tiene un significado análogo al  $t_{1/2\lambda z}$  que se halla en los modelos compartimentales. El MRT, se obtiene directamente de la curva experimental y puede considerarse como una variable estadística aleatoria. El  $t_{1/2\lambda z}$  por el contrario, es un parámetro obtenido a partir de la ecuación de ajuste.

En el presente estudio se ha obtenido un valor de MRT de 3,47 horas (Tabla 11). Este resultado es prácticamente igual al obtenido tras la administración de difloxacino en cabras (3,59 h, Marín y cols., 2007c). También es comparable al obtenido en un estudio realizado en cabras tras la administración de 40 mg/kg de enrofloxacino junto con probenecid (3,15 horas, Rao y cols., 2002b). Otros estudios en cabras dan como resultado valores inferiores, 2,73 h (Abo El-Sooud, 2003) y 0,97 h tras la administración de 2,5 mg/kg de enrofloxacino (Rao y cols., 2002a), y algo superiores cuando se administró a igual dosis que en nuestro estudio pero en cabras angoras (4,13 h, Muammer y cols., 2001).

El resultado obtenido en nuestro estudio también es comparable con el obtenido en ovejas (3,43 h, Rahal y cols., 2006) y en vacas (4,28 h, Malbe y cols., 1996). Valores algo superiores se obtuvieron en goral del Himalaya (4,65 h, Gandolf y cols., 2006), alpacas (4,85 h, Gandolf y cols., 2005), caballos (5,1 h, Kaartinen y cols., 1997a) y ovejas (5,36 h, Bermingham y Pupich, 2002). Valores de MRT muy superiores a los obtenidos en nuestro estudios se han señalado en yeguas (8,43 h, Papich y cols., 2002), en pollos cuando se administró una dosis de enrofloxacino de 10 mg/kg (9,65 h, Anadón y cols., 1995) y en cerdos con una dosis de 2,5 mg/kg de peso (12,77 h, Anadón y cols., 1999).

Resultados inferiores al presente estudio se obtuvieron en conejos (1,55 h, Broome y cols., 1991), en yak (1,84 h, Khargharia y cols., 2008) y en vacas lactantes (1,8 h, Kaartinen y cols., 1995).

En cuanto a otras fluoroquinolonas estudiadas en cabras, se han obtenido los siguientes valores de MRT: superiores para danofloxacino (5,39 h, Aliabadi y Lees, 2001) y ofloxacino (22,47 h, Baruah y cols., 2004), e inferiores para pefloxacino (1,07 h, Abd El-Aty y Goudah, 2002), ibafloxacino (1,50 h, Marín y cols., 2007b; dosis de 15 mg/kg), moxifloxacino (1,81 h, Fernández-Varón y cols., 2006a) y para orbifloxacino (2,75 h, Marín y cols., 2007a, dosis de 2,5 mg/kg).

#### **5.1.2.4.- VOLÚMENES DE DISTRIBUCIÓN APARENTE.**

El volumen de distribución aparente de enrofloxacino calculado en función del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo ( $V_z$ ) en cabra, alcanza un valor de 3,68 L/kg, en tanto que el volumen de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) adquiere un valor de 0,79 L/kg, obtenidos por el método no compartimental el primero (Tabla 11) y por compartimental el segundo (Tabla 6). Como se puede observar estos valores son altos, e indican que el fármaco tiene una excelente distribución en tejidos y fluidos en esta especie. La diferencia obtenida entre ambos volúmenes de distribución es consecuencia del método empleado para su cálculo. En el caso de  $V_z$ , se utiliza  $\lambda_z$  en el denominador, es decir se multiplica por el  $t_{1/2\lambda_z}$ , en cambio, en el cálculo del  $V_{ss}$  se multiplica por el MRT. Estas diferencias condicionan la validez de un determinado volumen de distribución. En general, el volumen de distribución es útil para transformar

concentraciones en cantidades de fármaco en el organismo y viceversa. Debido al método de cálculo, el  $V_{ss}$  es válido en aquellos momentos en que la curva de nivel plasmático está en zonas próximas a la inflexión y, por supuesto, durante la misma ( $V_{ss} = V_c + V_p$ ), en tanto que el  $V_z$  es válido en una zona más amplia de la curva de nivel plasmático, a partir de concentraciones anteriores al inicio de la fase de disposición lenta hasta el final del proceso.

Los valores obtenidos en cabra de  $V_z$  y  $V_{ss}$  por Rao y cols. (2002a), tras la administración de una dosis de 2,5 mg/kg, son de 1,38 y 1,28 L/kg, respectivamente. Similares valores en  $V_{ss}$  se obtuvieron en cabras angoras tras la administración de 5 mg/kg de enrofloxacin, concretamente 1,2 L/kg (Muammer y cols., 2001). Sin embargo, en el estudio realizado por Abo El-Sooud (2003), a igual dosis, obtuvieron valores muy superiores a los indicados en el nuestro: 7,30 L/kg y 4,61 L/kg para  $V_z$  y  $V_{ss}$ , respectivamente.

Otros estudios realizados con enrofloxacin en distintos animales, han descrito valores de  $V_z$  similares, utilizando la misma dosis y vía, para el cerdo (3,45 L/kg, Zeng y cols., 1996) y aproximadamente de 3 L/kg en ovejas y yeguas, si bien, en el estudio realizado en yeguas se administró una dosis de 7,5 mg/kg (Rahal y cols., 1996) e incluso superiores para conejos (4,4 L/kg, Cabanes y cols., 1992) y para el pollo cuando se administró una dosis de enrofloxacin de 10 mg/kg de peso (4,31 L/kg, Anadón y cols., 1995).

Para algunas especies animales, los valores de  $V_z$  son muy inferiores a los presentados en nuestro estudio, concretamente de 0,77 L/kg para terneros (Davidson y cols., 1986) y de 0,78 L/kg para caballos, cuando se les administró una dosis de 2,5 mg/kg de peso (Giguère y cols., 1996). Valores de  $V_z$  entre 1-2 L/kg fueron obtenidos para la mayoría de las especies animales: ovejas (1,1 L/kg, Bermingham y Pupich, 2002), yeguas (1,91 L/kg, Papich y cols., 2002), alpacas (1,61 L/kg, Gandolf y cols., 2005), yak (1,6 L/kg, Khargharia y cols., 2008), terneros (1,19 L/kg, García y cols., 1996) y conejos (2,12 L/kg, Broome y cols., 1991).

Estudios de otras fluoroquinolonas en cabras han señalado valores de  $V_z$  inferiores para moxifloxacin (1,44 L/kg, Fernández-Varón y cols., 2006a) y superiores para ibafloxacin (5,86 L/kg, Marín y cols., 2007b). Importante es resaltar que el ibafloxacin fue administrado, a cabras, a una dosis de 15 mg/kg.

En relación al volumen de distribución en el estado estacionario ( $V_{ss}$ ), se han señalado valores similares a los presentados en nuestro estudio para diferentes especies animales. En ellas se han observado valores inferiores a 1L/kg en el caso de ovejas (0,97 L/kg, Bermingham y Pupich, 2002), goral del Himalaya (0,65 L/kg, Gandolf y cols., 2006), conejos (0,93 L/kg, Broome y cols., 1991) y alpacas (0,44 L/kg, Gandolf y cols., 2005). En otras especies animales se han descrito valores muy superiores a los hallados en nuestro estudio: 2,77 L/kg en pollos cuando se les administró una dosis de 10 mg/kg (Anadón y cols., 1995), 7 L/kg en perros (Küng y cols., 1993) y 3,4 y 4,8 L/kg en conejos y conejos de angora, respectivamente (Cabanes y cols., 1992; Muammer y cols., 2007).

Respecto a otras fluoroquinolonas en cabras, Fernández-Varón y cols. (2006a), obtuvieron el mismo valor de  $V_{ss}$  (0,79 L/kg) para moxifloxacino que el hallado en nuestro estudio. Los valores de  $V_{ss}$  reportados para el resto de fluoroquinolonas estudiadas han sido mayores: 1,13 L/kg para el orbifloxacino (Marín y cols., 2007a), 1,16 L/kg para difloxacino (Marín y cols., 2007c), 1,31 L/kg para el marbofloxacino (Waxman y cols., 2001), 1,65 L/kg para ibafloxacino (Marín y cols., 2007b), 2,14 L/kg para el ciprofloxacino (El-Banna y Abo El-Sooud, 1998), 2,85 L/kg para el ofloxacino (Baruah y cols., 2004), 3,02 L/kg para el danofloxacino (Aliabadi y Lees, 2001) y 5,14 L/kg para el pefloxacino (Abd El-Aty y Goudah, 2002). Todos estos valores demuestran que las quinolonas se distribuyen ampliamente en tejidos

En cuanto al volumen de distribución aparente en el compartimento central ( $V_c$ ), adquiere un valor de 0,42 L/kg (Tabla 6). El valor del  $V_c$ , supone algo más del 53% del  $V_{ss}$ , lo que está de acuerdo con las microconstantes obtenidas, siendo el compartimento central mayor que el periférico ( $V_c > V_p$ , ya que  $k_{21} > k_{12}$ ).

Si observamos los volúmenes de distribución aparentes calculados, podemos constatar que  $V_z$  (3,68)  $>$   $V_{ss}$  (0,79)  $>$   $V_c$  (0,42), lo cual según Wagner, (1983), debe cumplirse siempre.

### 5.1.2.5.- ÁREA BAJO LA CURVA.

El área bajo la curva de nivel plasmático (AUC), es un parámetro que permite calcular el aclaramiento plasmático y la biodisponibilidad del fármaco tras su administración extravascular. Se calcula integrando, entre tiempo cero e infinito, la curva de concentración plasmática-tiempo, y puede hacerse tanto por análisis compartimental (a partir de la ecuación general del proceso) o por análisis no compartimental (métodos trapezoidal o logarítmico trapezoidal, a partir de la curva experimental) como en este caso.

El valor de AUC obtenido para enrofloxacino en cabras es de 22358,42  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 11). Este valor es similar al presentado en un estudio realizado en cabras de angora por Muammer y cols. (2001), de 21120  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ . También en yeguas se obtuvo un valor parecido de AUC, concretamente de 21030  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , tras la administración de una dosis de 7,5 mg/kg (Haines y cols., 2000).

Otros estudios realizados en cabras con enrofloxacino obtuvieron valores inferiores de AUC. En el primer estudio, en el que utilizaron una dosis de 2,5 mg/kg, obtuvieron un AUC de 1916  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Rao y cols., 2002a), mientras que en el segundo, en el que utilizaron una dosis de 40 mg/kg, de enrofloxacino junto con probenecid obtuvieron un valor de 8420  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Rao y cols., 2002b). Otro estudio posterior, realizado en cabras, tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino, reporta un valor de AUC de 2360  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Abo El-Sooud, 2003).

Respecto a valores de AUC obtenidos en otras especies tras la administración de enrofloxacino en las mismas condiciones de dosis y vía que en nuestro estudio, podemos destacar que se han encontrado valores similares en caballos y yeguas, concretamente 19500  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  y 25280  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , respectivamente (Kaartinen y cols., 1997; Papich y cols., 2002).

En ovejas los valores de AUC han sido superiores en un estudio (31190  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , Bermingham y cols., 2002) e inferiores en otro (6320  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , Rahal y cols., 2006). Valores muy superiores a los obtenidos en nuestro estudio se reportaron en alpacas, (58390  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , Gandolf y cols., 2005) y goral del Himalaya (37050  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , Gandolf y cols., 2006).

En la cabra, con otras fluoroquinolonas, se han obtenido valores inferiores de AUC para la mayoría de ellas: difloxacino (1,4 veces; Marín y cols., 2007c),

ibafloxacino (1,5 veces; Marín y cols., 2007b), moxifloxacino (1,9 veces; Fernández-Varón y cols., 2006a), marbofloxacino (2,7 veces; Waxman y cols), orbifloxacino (3,6 veces; Marín y cols., 2007a), pefloxacino (8 veces; Abd El-Aty y Goudah, 2002) y danofloxacino (10 veces; Aliabadi y Lees, 2001). En cambio, Baruah y cols. (2004), dan un valor 2,6 veces mayor para el ofloxacino. Las dosis utilizadas fueron de 5 mg/kg para difloxacino, moxifloxacino, ciprofloxacino y ofloxacino, de 1,25 mg/kg para danofloxacino, de 2,5 mg/kg en el caso de marbofloxacino y orbifloxacino, de 10 mg/kg para pefloxacino y de 15 mg/kg para ibafloxacino.

#### **5.1.2.6.- ACLARAMIENTO PLASMÁTICO.**

El aclaramiento plasmático (Cl) puede calcularse a partir de las curvas de niveles plasmáticos, recurriendo a métodos modelo-dependientes, basados en los modelos compartimentales y fisiológicos, o utilizando métodos modelo-independientes basados en la estimación del AUC (Doménech y cols., 1997). En nuestro estudio, se ha calculado el Cl en función del área bajo la curva mediante análisis no compartimental. El valor obtenido ha sido de 0,24 L/kg·h (Tabla 11).

Muammer y cols. (2001), obtuvieron el mismo valor de Cl en cabras de angora. Otros estudios realizados en cabras a una dosis de enrofloxacino 2,5 mg/kg y 40 mg/kg (junto probenecid), señalaron valores superiores de Cl, concretamente de 1,33 y 0,7 L/kg·h, respectivamente (Rao y cols., 2002a; Rao y cols., 2002b). Estudios posteriores hallaron un valor de aclaramiento superiores al nuestro, concretamente de 1,67 L/kg·h, cuando se administró una dosis de 5 mg/kg (Abo El-Sooud, 2003).

Valores similares a los descritos en nuestro estudio han sido encontrados en otros animales. Así, se obtuvieron valores de Cl en oveja de 0,2 L/kg·h (Birmingham y cols., 2002), en pollos de 0,29 L/kg·h, cuando se les administró una dosis de 10 mg/kg (Anadón y cols., 1995) y en goral del Himalaya 0,19 L/kg·h (Gandolf y cols., 2006).

Se han reportado valores superiores de Cl en yak (0,87 L/kg·h; Khargharia y cols., 2008), perros (1,63 L/kg·h; Küng y cols., 1993), conejos de angora (1,7 L/kg·h; Muammer y cols., 2007) y conejos (1,37 L/kg·h; Cabanes y cols., 1992), y valores inferiores a nuestros resultados en potros (0,1 L/kg·h; Birmingham y cols., 2000), vacas (0,22 L/kg·h; Papich y cols., 2002), terneros (0,2 L/kg·h; Davidson y cols., 1986) y alpacas (0,09 L/kg·h; Gandolf y cols., 2005).



Waxman y cols. (2001), obtuvieron el mismo valor de Cl que en nuestro estudio para marbofloxacino en cabras cuando se les administró una dosis de 2,5 mg/kg. Estudios con otras fluoroquinolonas en cabras señalan valores superiores de aclaramiento para el pefloxacino (3,6 L/kg·h; Abd El-Aty y Goudah, 2002), el ibafloxacino (1,05 L/kg·h; Marín y cols., 2007b), el ciprofloxacino (0,88 L/kg·h; El Banna y Abo El-Sooud, 1998), el danofloxacino (0,57 L/kg·h; Aliabadi y Lees, 2001), el moxifloxacino y orbifloxacino (0,4 L/kg·h; Fernández-Varón y cols., 2006a; Marín y cols., 2007a) y el difloxacino (0,32 L/kg·h; Marín y cols., 2007c). Un valor menor, de 0,14 L/kg·h, ha sido obtenido para el ofloxacino (Baruah y cols., 2004).

### **5.1.3.- ESTUDIO DE CIPROFLOXACINO, METABOLITO ACTIVO DE ENROFLOXACINO, TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE ENROFLOXACINO.**

#### **5.1.3.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.**

La evolución de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacino tras la administración intravenosa de 5 mg/kg de enrofloxacino a cabras, se ha ajustado a los modelos mono y bicompartimentales, con ponderación y sin ponderación de los datos experimentales, y considerando que existe tiempo de latencia.

Del mismo modo que para el estudio del modelo farmacocinético del enrofloxacino, se ha considerado el Criterio de Información de Akaike o AIC (Yamaoka y cols., 1978) como criterio fundamental de decisión para poder decidir que modelo farmacocinético resulta más apropiado para el ciprofloxacino.

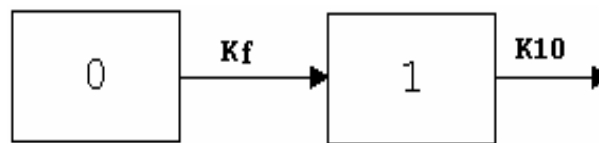
Al analizar los valores de AIC, se observa en todos los animales un mejor ajuste al modelo monocompartimental abierto. Así pues, se puede concluir que las concentraciones plasmáticas experimentales de ciprofloxacino obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino en cabras, se ajustan a un modelo monocompartimental abierto con absorción de primer orden (correspondiente a la formación de metabolito).

Existen dos estudios farmacocinéticos de administración intravenosa de enrofloxacino en cabras, en los que describen el estudio farmacocinético de su metabolito activo ciprofloxacino, y obtienen, como en nuestro caso, un mejor ajuste a

un modelo monocompartmental abierto con absorción de primer orden (Rao y cols., 2002a; Rao y cols., 2002b). En ovejas también ha resultado mejor el ajuste a un modelo monocompartmental abierto con absorción de primer orden (Rahal y cols., 2006).

Estudios realizados de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino obtenidas tras la administración intravenosa de enrofloxacino en perros (Küng y cols., 1996) y ovejas (Mengozzi y cols., 1996), han utilizado métodos no compartimentales.

El modelo monocompartmental abierto con absorción de primer orden se caracteriza por considerar dos compartimentos cinéticos: uno externo (lugar desde el que se produce la absorción o, en el caso del ciprofloxacino, lugar de formación del metabolito activo) y uno interno (fracción del organismo al que accede el fármaco). En este modelo, el paso del fármaco desde el compartimento externo (lugar de formación del metabolito activo ciprofloxacino) al interno se supone es un proceso cinético de primer orden, regido por la constante de formación de metabolito  $K_f$ . En la siguiente figura puede esquematizarse el referido modelo:



**Figura 2.-** Representación esquemática del modelo monocompartmental del metabolito ciprofloxacino tras la administración intravenosa de enrofloxacino.

El modelo monocompartmental abierto del ciprofloxacino tras la administración de una dosis intravenosa de enrofloxacino, viene definido por la siguiente ecuación:

$$C = C_z \cdot e^{-\lambda_z t} - C_f \cdot e^{-k_f t} \quad (3)$$

Esta ecuación adquiere diferentes valores para cada animal (Tabla 16), es por ello que para hallar la ecuación que mejor define la evolución de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino en la cabra, se deben llevar a cabo estudios estadísticos que permitan calcular los valores medios para cada uno de los parámetros que intervienen en la misma.

De este modo, los estadísticos correspondientes a los parámetros farmacocinéticos, deducidos a partir de las concentraciones plasmáticas experimentales, así como los resultados del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, se muestran en las Tablas 17 y 18, respectivamente.

Por consiguiente, la ecuación que define más correctamente la evolución de las concentraciones plasmáticas experimentales de ciprofloxacino en la cabra tras la administración intravenosa, de una dosis única de 5 mg/kg de enrofloxacino, adquiere el siguiente valor:

$$C = 547,2541 \cdot e^{-0,2815 t} - 547,2542 \cdot e^{-5,1381 t} \quad \mu\text{g/L} \quad (4)$$

Hay que señalar que los tiempos de latencia detectados en estos animales son despreciables y por ello los coeficientes ( $C_z$  y  $C_f$ ) resultantes son de igual magnitud.

En los Gráficos 13 y 14, se representan las concentraciones medias experimentales de manera directa y semilogarítmica, respectivamente. La representación directa de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 13), pone de manifiesto que los niveles de ciprofloxacino ascienden muy rápidamente durante los primeros 15-30 minutos y alcanzan el pico máximo entre los 60 y 90 minutos. A partir de este momento las concentraciones de ciprofloxacino disminuyen en lo que podría considerarse una monoexponencial que se mantiene hasta el final del proceso (aproximadamente hasta las 12 horas tras la administración del enrofloxacino).

### 5.1.3.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental y no compartimental del ciprofloxacino, se muestran en las Tablas 16 y 17. Todos los parámetros van referidos a cada animal y a sus concentraciones medias. Pasamos a continuación a comentar los parámetros farmacocinéticos más representativos del ciprofloxacino tras la administración intravenosa de enrofloxacino a cabras.

Cabe destacar que los parámetros farmacocinéticos del ciprofloxacino, al ser un producto del metabolismo del enrofloxacino, presentan gran variabilidad no solo entre distintas especies animales, sino entre ellas mismas.

### 5.1.3.2.1- TIEMPO DE VIDA MEDIA Y MRT.

En el caso del ciprofloxacino, el valor de  $t_{1/2\lambda_z}$ , considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982), obtenido tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacinó ha sido 2,49 h (Tabla 17).

Este valor es 2,7 veces superior al hallado por Rao y cols. (2002a) en cabras (0,92 h), tras la administración de cuando se administró 2,5 mg/kg de enrofloxacinó. Otro estudio realizado en cabras, en el que se administró una dosis de 40 mg/kg de enrofloxacinó junto con probenecid, obtuvo un valor de semivida superior al nuestro (3,85 h; Rao y cols., 2002b).

En ovejas se han obtenido valores similares de semivida (2,37 h; Rahal y cols., 2006). Sin embargo, utilizando una dosis inferior (2,5 mg/kg), en la misma especie animal, se halló un valor de semivida 1,7 veces superior (4,13 h; Mengozzi y cols., 1996).

Valores aproximados de semivida a los descritos en nuestro estudio también se obtuvieron en vacas a igual dosis (2,7 h; Malbe y cols., 1996). En otras especies animales, tales como perros, caballos y gatos, se han obtenido valores superiores a los hallados en nuestro estudio: en perros 3,9 h (Küing y cols., 1993), en caballos 5,1 h (Kartinen y cols., 1997) y en gatos 6,1 h (Richez y cols., 1994). En todos los animales descritos se utilizaron dosis iguales a las de nuestro estudio.

El Banna y Abo El-Sooud (1998) realizaron un estudio farmacocinético de ciprofloxacino en cabras lactantes, a las que se administró vía intravenosa una dosis de 5 mg/kg. Los resultados de este estudio no son comparables al nuestro, ya que en nuestro caso el ciprofloxacino es producto del metabolismo del enrofloxacinó. Sin embargo, el valor de semivida es similar al obtenido en nuestro estudio, concretamente de 2,78 h.

El MRT, que como se comentó es independiente de la ecuación de ajuste y se calcula directamente a partir de la curva experimental, presenta un valor de 3,73 h (Tabla 17).

Este parámetro presenta una gran variabilidad dependiendo de la especie estudiada, describiéndose en ovejas el valor más parecido de MRT al hallado en nuestro estudio (4,27 h; Rahal y cols., 2006). Sin embargo, en otro estudio realizado en ovejas

tras la administración de una dosis de 2,5 mg/kg, se halló un valor de 8,35 h (Mengozi y cols., 1996).

En cabras se han encontrado valores de MRT inferiores y superiores a los descritos en nuestro estudio, concretamente de 1,93 y 7,34 h, tras la administración de una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino y una dosis de 40 mg/kg de enrofloxacino junto con probenecid, respectivamente (Rao y cols., 2002a; Rao y cols., 2002b).

Otros estudios realizados con enrofloxacino en conejos y ganado vacuno han reportado valores de MRT muy superiores: 7,6 y 9,5 h, respectivamente (Kaartinen y cols., 1997; Richez y cols., 1994). En ambos casos se les administró una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino.

### **5.1.3.2.2- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.**

Otro parámetro a tener en cuenta para el ciprofloxacino, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino, es el tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima o tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ). El  $T_{m\acute{a}x}$  es independiente de la dosis administrada, pero sí se modifica en función de la forma farmacéutica administrada y la vía de administración, ya que depende de la constante de absorción (en nuestro caso, de formación del metabolito). El valor de este parámetro ha sido de 0,64 h (Tabla 17). Este valor no es elevado e indica que la  $C_{m\acute{a}x}$  se alcanza poco después de la media hora de la administración. Además, concuerda con el valor elevado de  $k_f$ , que determina una rápida formación del metabolito. Estos hechos nos llevan a pensar que se alcanzará una  $C_{m\acute{a}x}$  alta.

En un estudio realizado en vacas, Malbe y cols. (1996), señalan un valor de  $T_{m\acute{a}x}$  similar, aunque algo inferior, al obtenido en nuestro estudio, concretamente de 0,53 h.

Los dos estudios que han sido realizados en cabras han reportado unos valores de  $T_{m\acute{a}x}$  superiores a los descritos en el nuestro. Así, en uno de ellos se obtuvo un  $T_{m\acute{a}x}$  1,5 veces superior al nuestro (0,95 h; Rao y cols., 2002a), mientras en el otro el resultado fue casi 4,4 veces superior (2,8 h; Rao y cols., 2002b), si bien en este último estudio el enrofloxacino se administró junto a probenecid.

En dos estudios realizados en ovejas los valores hallados para este parámetro han sido superiores (2,92 y 1,67h) a los del presente trabajo (Mengozi y cols., 1996; Rahal y cols., 2006).

En otras especies animales se han obtenido valores de  $T_{m\acute{a}x}$  superiores e inferiores a los hallados en nuestro estudio. Así, en el caso de perros y gatos, se han obtenido valores superiores, concretamente de 2,2 y 2,6 h, respectivamente (Küing y cols., 1993; Richez y cols., 1994). En cambio, en caballos se obtuvo un valor de  $T_{m\acute{a}x}$  inferior, concretamente de 0,44 h (Kaartinen y cols., 1997).

Los resultados obtenidos en estos estudios, (incluyendo el nuestro), nos indican una formación del metabolito (ciprofloxacino) más rápida en caballos, vacas y cabras que en la oveja, el gato o el perro.

En cuanto a la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el valor obtenido para el ciprofloxacino en cabra en nuestro estudio, ha sido de 452,08  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 17). Uno de los dos estudios realizados en cabras reporta un valor de  $C_{m\acute{a}x}$  inferior al descrito en nuestro estudio, concretamente de 200  $\mu\text{g/L}$ , en el cual se administró una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino (Rao y cols., 2002a) en cualquier caso si entendemos que con una dosis de 5 mg/kg se obtendría una  $C_{m\acute{a}x}$  doble, nuestro resultado es ligeramente mayor.

En cambio, en el otro estudio realizado también en cabras se describió un valor de 720  $\mu\text{g/L}$  (Rao y cols., 2002b), pero se administró una dosis de enrofloxacino 2,7 veces mayor (40 mg/kg) y junto con probenecid. Haciendo las correcciones pertinentes, esta  $C_{m\acute{a}x}$  es bastante inferior a la de nuestro estudio.

En ovejas, los estudios realizados obtienen unos resultados de  $C_{m\acute{a}x}$  muy inferiores a los descritos en nuestro estudio. En uno de ellos se administraba una dosis inferior, de 2,5 mg/kg, y se obtuvo un valor de 130  $\mu\text{g/L}$  (Mengozi y cols., 1996). El otro estudio, en el que se utilizó la misma dosis de enrofloxacino que en el nuestro, obtuvo un valor de 180  $\mu\text{g/L}$  (Rahal y cols., 2006).

Al igual que ocurre en parámetros anteriores hay gran variación con los resultados obtenidos en otras especies animales. Se han descrito valores mayores de  $C_{m\acute{a}x}$  en el caso de caballos y vacas: 1000 y 550  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente (Kaartinen y cols., 1997; Malbe y cols., 1996). Tanto en caballos como en vacas se utilizaron las mismas condiciones que en nuestro estudio.

Otros estudios describen resultados de  $C_{m\acute{a}x}$  menores. Esto ocurre cuando se administró el enrofloxacino a yeguas o a gatos a igual dosis que en nuestro estudio. En dichos estudios se obtuvieron valores de 279 y 90  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente (Papich y cols., 2002; Richez y cols., 1994).

### 5.1.3.2.3- CONSTANTE DE FORMACIÓN Y SEMIVIDA DE FORMACIÓN.

La ecuación 4 define la evolución de las concentraciones plasmáticas ciprofloxacino, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino en cabras. Sin embargo, las constantes de formación y eliminación, que se extraen de dicha ecuación no son reales, sino aparentes.

En el presente estudio, se ha obtenido un valor aparente de la constante de formación ( $k_f$ ) de  $5,14 \text{ h}^{-1}$  y de la vida media asociada a la misma ( $t_{1/2kf}$ ) de 0,15 h (Tabla 17).

Respecto al tiempo de vida media de la fase de formación del metabolito ( $t_{1/2kf}$ ), se han descrito en otros estudios realizados en cabras valores superiores, concretamente de 0,46 y 1,09 h (Rao y cols., 2002a; Rao y cols., 2002b). En ambos estudios se utilizaron dosis diferentes de enrofloxacino, de manera que en el primero administraron 2,5 mg/kg y en el segundo 40 mg/kg en combinación con probenecid.

En ovejas también se ha estudiado el ciprofloxacino como metabolito del enrofloxacino. El valor obtenido de  $t_{1/2kf}$  fue superior al descrito en nuestro estudio, 0,78h (Rahal y cols., 2006). Otros estudios realizados en diferentes animales también han descrito valores de  $t_{1/2kf}$  superiores. Así, en gatos y vacas se hallaron valores de 0,2 h (Richez y cols., 1994; Malbe y cols., 1996) y en perros un valor de 0,64 h (Küng y cols., 1993).

Como podemos observar, todos los resultados de  $t_{1/2kf}$  dados en estos estudios son superiores al valor descrito en el nuestro. Como consecuencia, podemos afirmar que la formación de ciprofloxacino, tras la administración intravenosa de enrofloxacino, resulta ser más lenta en gatos, vacas, ovejas, perros e incluso en otras razas de cabra.

#### **5.1.3.2.4- ÁREA BAJO LA CURVA Y RATIO DE METABOLITO.**

Uno de los principales parámetros de interés es el área bajo la curva de nivel plasmático (AUC), obtenida para el ciprofloxacino tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin. Éste alcanza un valor de 1958,07  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 17). Un valor similar se obtuvo en perros, concretamente de 1749  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Küing y cols., 1993).

Estudios realizados en cabras describen un valor superior e inferior de AUC. Rao y cols. (2002a), al administrar una dosis de enrofloxacin de 40 mg/kg junto a probenecid, obtuvieron un valor de AUC de 6290  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ . Sin embargo, en otro estudio en el que se utilizó una dosis de 2,5 mg/kg, se describió un AUC de 440  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Rao y cols., 2002b).

En ovejas, con igual dosis, se obtuvo un AUC inferior, aproximadamente 4,3 veces menor, al descrito en nuestro estudio (440  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Rahal y cols., 2006). Otro estudio realizado en ovejas, pero administrando una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacin, también reporta un valor aparentemente inferior que en nuestro estudio, concretamente de 1200  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Mengozzi y cols., 1996). Sin embargo si hacemos la corrección según la dosis, estos autores obtendrían un valor ligeramente mayor que el nuestro (2400  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ).

Diversos estudios realizados en otras especies, reportan variabilidad de valores de AUC. Es el caso de las gatos en los que se obtiene un valor de AUC muy inferior al nuestro (315  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Richez y cols., 1994) o en el caballo y yegua en los cuales se obtienen valores mayores de AUC, 2900 y 2825  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , respectivamente (Kaartinen y cols., 1997; Papich y cols., 2002).

Por último, cabe destacar que en un estudio realizado en cabras lactantes, tras la administración intravenosa de 5 mg/kg de ciprofloxacino, se obtuvo un valor 2,4 veces superior al AUC encontrado en nuestro estudio (5890  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; El-Banna y Abo El-Sooud., 1998). Este valor, como se comentó anteriormente, no es comparable al nuestro, ya que en nuestro caso el ciprofloxacino es producto del metabolismo del enrofloxacin.



La ratio de metabolito (MR), expresada en porcentaje, fue calculada relacionando las AUC del ciprofloxacino y del enrofloxacino intravenosos, según la siguiente ecuación:

$$\text{MR} = \frac{\text{AUC ciprofloxacino iv}}{\text{AUC enrofloxacino iv}} \cdot 100 \quad (5)$$

En nuestro estudio, los niveles de ciprofloxacino en plasma alcanzan un 9,16 % de los niveles plasmáticos de enrofloxacino (Tabla 19). Una ratio similar se obtuvo en un estudio realizado en ovejas, en el cual se describió un valor del 8% (Rahal y cols., 2006), e incluso un valor inferior fue obtenido en gatos, concretamente del 5,5% (Richez y cols., 1994).

En cabras, se obtuvieron unos MR muy superiores al hallado en nuestro estudio, del 24%, cuando se administró una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino, y 86%, con una dosis de 40 mg/kg de enrofloxacino junto con probenecid (Rao y cols., 2002a; Rao y cols., 2002b).

En vacas lactantes y ovejas, a las que se les administró una dosis de enrofloxacino de 5 y 2,5 mg/kg respectivamente, se obtuvo un MR del 35% (Kaartinen y cols., 1995; Mengozzi y cols., 1996).

Por último, en caballos también se obtuvo un valor de MR superior al encontrado en la cabra, concretamente del 20% (Kaartinen y cols., 1997).

## **5.2.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN CABRAS.**

### **5.2.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.**

La evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin, tras la administración subcutánea de 5 mg/kg en cabras, se ha ajustado, igual que en la administración intravenosa, a modelos mono y bicompartimentales con y sin ponderación de los datos experimentales.

En todos los animales estudiados y en las concentraciones medias, el valor de AIC indica un mejor ajuste a un modelo bicompartimental. Así, la evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin, tras su administración subcutánea, sigue un modelo farmacocinético bicompartimental abierto con absorción de primer orden.

Igual que en la administración intravenosa, se ha realizado un análisis de regresión para demostrar la existencia de una buena correlación entre las concentraciones experimentales y teóricas de cada animal y para las concentraciones medias. Los resultados de dicho estudio aparecen en la Tabla 23, en la que se comprueba que no existen diferencias significativas entre las mismas ( $p > 0,001$ ), por lo que las concentraciones teóricas son plenamente representativas del proceso y el ajuste obtenido es totalmente válido.

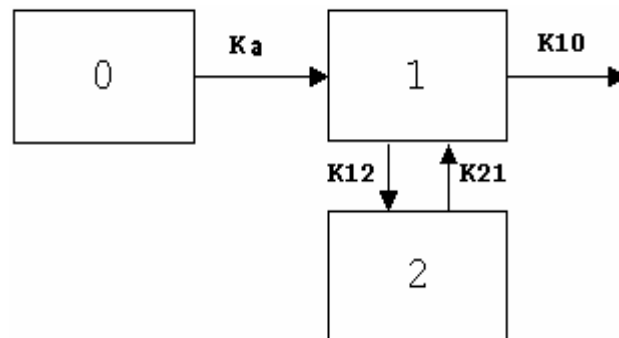
En la literatura no existen estudios compartimentales en cabras tras la administración de enrofloxacin vía subcutánea. El único estudio encontrado realiza un análisis no compartimental de las concentraciones plasmáticas (Ramesh y cols., 2002).

El modelo bicompartimental hallado en nuestro estudio se ha obtenido también tras la administración subcutánea a cabras de otras fluoroquinolonas. Es el caso de orbifloxacin (Marín y cols., 2007a) y difloxacin (Marín y cols., 2007b).

Diferentes estudios realizados con enrofloxacin administrado subcutáneamente en otros animales han dado como resultado un ajuste a un modelo monocompartimental, concretamente en ovejas (Rahal y cols., 2006) y conejos (Broome y cols., 2001). Otros estudios con enrofloxacin en otras especies animales han realizado análisis no compartimentales.

Cuando se administra un fármaco por vía extravascular (oral, intramuscular, subcutánea, transdérmica, etc.) el modelo bicompartimental puede esquematizarse como

se indica en la figura 3, en la cual se considera la variación instantánea de concentración en el compartimento central:



**Figura 3.-** Representación esquemática del modelo bicompartimental tras la administración extravascular de un fármaco.

Este modelo consta de tres compartimentos, al considerar el que corresponde a los lugares de absorción.

El modelo bicompartimental abierto tras una dosis subcutánea, viene definido por la siguiente ecuación:

$$C = C_1 \cdot e^{-\lambda_1 t} + C_z \cdot e^{-\lambda_z t} - C_a \cdot e^{-k_a t} \quad (6)$$

Dicha ecuación adquiere valores distintos en cada animal, que se muestran en la Tabla 24. Los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 25, así como los valores de los parámetros que resultan de las concentraciones medias. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación, junto con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 26), revelan que los parámetros son homogéneos y no existen diferencias significativas para un mismo parámetro.

Por tanto, la ecuación que describe la evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino, tras su administración subcutánea, obtenida con los parámetros medios, adopta el siguiente valor:

$$C = 50345957,4053 \cdot e^{-0,4216 t} + 108,9172 \cdot e^{-0,0680 t} - 50346066,3225 \cdot e^{-0,4590 t} \mu\text{g/L} \quad (7)$$

La representación directa de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 22), pone de manifiesto que los niveles de enrofloxacino aumentan rápidamente durante la primera fase de absorción del fármaco (primeras 4 horas), alcanzando su máximo alrededor de las 4 horas, para descender rápidamente en la fase posterior, hasta las 12 horas aproximadamente y, a partir de este momento disminuyen de forma más lenta, dando lugar a una tercera fase, que podría considerarse monoexponencial y que se mantiene hasta el final del proceso (hasta las 48 horas tras la administración). Este hecho se aprecia más claramente al observar la representación semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 23), en la cual tras la administración del fármaco vía subcutánea, con una cinética de absorción de primer orden, aparece una curva triexponencial, cuya fase terminal es una recta.

La transformación de esta recta semilogarítmica, en su ecuación exponencial correspondiente, desarrolla la expresión triexponencial ya indicada en la ecuación 7, siendo representativa cada exponencial de los procesos que sufre el fármaco: absorción, regida por la constante de absorción ( $K_a$ ), disposición rápida, descrita por la constante de disposición rápida ( $\lambda_1$ ), rige fundamentalmente los procesos de distribución, y la disposición lenta que viene dada por la constante de disposición lenta ( $\lambda_2$ ), que rige los procesos de eliminación principalmente.

La ecuación 7 resulta válida para definir la evolución temporal de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino en cabras, tras su administración subcutánea. Sin embargo, esta ecuación no es válida, para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos que caracterizan la evolución del enrofloxacino en la cabra, ya que estos últimos vienen definidos por el estudio tras la administración intravenosa. Sin embargo, vamos a comentar algunos parámetros obtenidos de esta última ecuación, ya que pueden dar una información interesante.

### **5.2.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.**

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental del enrofloxacino, se muestran en las Tablas 24 y 25. En las Tablas 27 y 28 aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales. Todos los parámetros van referidos a cada animal y a sus concentraciones medias. Pasamos a continuación a comentar los

parámetros farmacocinéticos más representativos del enrofloxacinó tras su administración subcutánea a cabras.

### 5.2.2.1.- TIEMPOS DE VIDA MEDIA, MRT Y MAT.

Al igual que en la vía intravenosa, se ha calculado el tiempo de vida media de la fase de disposición rápida ( $t_{1/2\lambda_1}$ ) para enrofloxacinó y el tiempo de vida media de la fase de disposición lenta ( $t_{1/2\lambda_z}$ ), considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982). Estos valores son de 1,82 y 12,42 h, respectivamente (Tabla 25).

Estos valores obtenidos resultan ser superiores en casi 1,6 y 1,2 veces a los obtenidos tras la administración intravenosa (1,16 h y 10,44 h, Tabla 6), para  $t_{1/2\lambda_1}$  y  $t_{1/2\lambda_z}$ , respectivamente. Ello puede ser indicativo de que el proceso de absorción, puede convertirse en un factor limitante de la eliminación.

En cabras, se han presentado valores del  $t_{1/2\lambda_1}$  referentes a otras fluoroquinolonas. En estos estudios se obtuvieron valores superiores e inferiores de  $t_{1/2\lambda_1}$ , concretamente de 2,19 h para difloxacinó y 1,10h para orbifloxacinó (Marín y cols., 2007c; Marín y cols., 2007a).

En cuanto al  $t_{1/2\lambda_z}$ , el valor obtenido en nuestro estudio es más de 4 veces superior al hallado en uno realizado en cabras, que reporta un valor de 2,84h (Ramesh y cols., 2002), si bien la dosis utilizada en este estudio fue de 7,5 mg/kg de peso.

En ovejas se han obtenido valores inferiores de semivida, concretamente de 7,12 h (Rahal y cols., 2006). Igualmente, en otras especies animales también se han obtenido valores inferiores a los hallados en nuestro estudio. Así, 7,83 h en alpacas (Gandolf y cols., 2005), 5,55 h en vacas lactantes (Kaartinen y cols., 1995), 2,34 h en terneros (De Lucas y cols., 2008) y 1,71 h en conejos (Broome y cols., 1991). En todos los animales descritos se utilizaron dosis iguales a las de nuestro estudio. Otros estudios realizados en vacas a diferentes dosis, concretamente de 8 y 12,5 mg/kg, obtuvieron semividas de 7,28 h y 6,79 h, respectivamente (TerHune y cols., 2005; Davis y cols., 2007).

Respecto a otras fluoroquinolonas en cabras, también se han registrado vidas medias inferiores a los hallados en nuestro estudio; con difloxacinó (7,33 h; Marín y cols., 2007c), orbifloxacinó (4,99 h; Marín y cols., 2007a), danofloxacinó (4,09 h;

Escudero y cols., 2007) y moxifloxacino (2,98 h; Fernández-Varón y cols., 2006a). En el caso de difloxacino (Marín y cols., 2007c), como ocurre en nuestro estudio, ambos tiempos ( $t_{1/2\lambda_1}$  y  $t_{1/2\lambda_2}$ ) son superiores a los obtenidos tras su administración intravenosa.

El MRT presenta un valor de 6,06 h (Tabla 28). Éste parámetro es 1,7 veces mayor que el descrito tras la administración intravenosa (Tabla 11).

En cabras se han encontrado valores de MRT similares a los hallados en nuestro estudio, concretamente de 5,74 h, tras la administración de una dosis de 7,5 mg/kg de enrofloxacino (Ramesh y cols., 2002). Valores aproximados se obtuvieron también en terneros (5,52 h; McKellar y cols., 1999) cuando se administró una dosis de 2,5 mg/kg.

Otros estudios realizados con enrofloxacino en diferentes animales han reportado valores de MRT inferiores, en el caso de conejos y ganado vacuno: 1,46 y 3,56 h, respectivamente (Broome y cols., 1991; De Lucas y cols., 2008), y superiores, en el caso de vacas lactantes, alpacas y ovejas: 8,4, 10,33 y 11,23 h (Kartinen y cols., 1995; Gandolf y cols., 2005; Rahal y cols., 2006). A todos los animales se les administró una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino.

En la cabra, para moxifloxacino, el MRT es prácticamente igual al del enrofloxacino (6,15 h; Fernández-Varón y cols., 2006a). Un valor mayor de MRT (7,26 h, Marín y cols., 2007c) presenta el difloxacino, y valores menores el marbofloxacino (5,44 h; Waxman y cols., 2001), el danofloxacino (4,51 h; Escudero y cols., 2007), el orbifloxacino (3,58 h; Marín y cols., 2007a) y el pefloxacino (2,12 h; Abd El-Aty y Goudah, 2002). Las dosis utilizadas para algunas fluoroquinolonas fueron distintas a las utilizadas en nuestro estudio. Así, en el caso de marbofloxacino y orbifloxacino se administró una dosis de 2,5 mg/kg de peso, para danofloxacino 6 mg/kg, y para pefloxacino 10 mg/kg.

En las Tablas 27 y 28, se presentan los valores correspondientes al MRT y el tiempo medio de absorción (MAT) subcutáneos; en tanto que el MRT intravenoso aparece en las Tablas 10 y 11. A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar como en todas las cabras, excepto la cabra 1, el valor de MAT es inferior al del MRT intravenoso. Si se consideran los valores medios obtenidos, resulta que el MRT intravenoso (3,47 h) resulta entorno a 1,5 veces superior al MAT subcutáneo (2,30 h). De ello se concluye que, en principio, la absorción, tras la administración subcutánea de enrofloxacino, no condiciona su eliminación.

No se han encontrado descritos valores de MAT para enrofloxacino en cabras, y en otros animales son escasos. En la oveja, se han señalado valores de MAT superiores a los hallados en nuestro estudio, concretamente de 8,01 h (Rahal y cols., 2006). Valores superiores también han sido descritos en vacas lactantes, 6,92 h (Kaartinen y cols., 1995), y muy inferiores a los nuestros en conejos, 0,43 h (Broome y cols., 1991). En el estudio realizado en ovejas y vacas lactantes, los valores de MAT superan a los valores de MRT intravenoso.

Estudios con otras fluoroquinolonas en cabras han descrito valores de MAT menores a los encontrados en nuestro estudio en el caso de danofloxacino (2,01 h, Escudero y cols., 2007) y orbifloxacino (0,89 h, Marín y cols., 2007a), cuando se administró una dosis de 6 y 2,5 mg/kg, respectivamente, y mayores en el caso de moxifloxacino (4,31 h; Fernández-Varón y cols., 2006a) y difloxacino (3,67 h; Marín y cols., 2007c) administrados a igualdad de dosis que en nuestro estudio, resultando ser estos últimos dos valores superiores a sus respectivos MRT intravenosos.

### **5.2.2.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.**

Otro parámetro a tener en cuenta tras la administración subcutánea es el tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima o tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ). El valor de este parámetro ha sido de 2,43 h (Tabla 25). El  $T_{m\acute{a}x}$  es independiente de la dosis administrada, pero sí se modifica en función de la forma farmacéutica administrada y la vía de administración, ya que depende de la constante de absorción.

En el estudio realizado por Ramesh y cols. (2002) en cabras, señalan un valor de  $T_{m\acute{a}x}$  de 2,9 h, similar al obtenido en nuestro estudio. Este mismo resultado ha sido reportado en ganado vacuno (Stegemann y cols., 1997).

En ovejas se han hallado valores inferiores a los reportados en nuestro estudio, siendo el valor obtenido de 2 h (Rahal y cols., 2006).

En otras especies animales se han obtenido valores de  $T_{m\acute{a}x}$  superiores: 6 h en alpacas, 4,8 h en vacas y 3,2 h vacas lactantes (Gandolf y cols., 2005; Davis y cols., 2007; Kaartinen y cols., 1995). Valores inferiores a los hallados en nuestro estudio se han obtenido en vacas (2 h; TerHune y cols., 2005 y 1,38 h; De Lucas y cols., 2008), en terneros (1,75 h; McKellar y cols., 1999) y conejos (0,9 h; Broome y cols., 1991). Los

resultados obtenidos en estos últimos cuatro estudios junto con el descrito anteriormente en ovejas, nos indican una absorción del enrofloxacino aún más rápida que en la cabra.

Entre las diversas fluoroquinolonas estudiadas en cabras se encuentra el moxifloxacino, cuyo  $T_{m\acute{a}x}$  de 2,42 h (Fernández-Varón y cols., 2006a) resulta igual al obtenido en nuestro estudio. Respecto a otras fluorquinolonas también estudiadas en cabras, se han encontrado valores de  $T_{m\acute{a}x}$  inferiores en el danofloxacino (1,64 h; Escudero y cols., 2007) y el orbifloxacino (1,25 h; Marín y cols., 2007a). Por el contrario, el  $T_{m\acute{a}x}$  del difloxacino, de 3,37 h, es mayor (Marín y cols., 2007c).

En cuanto a la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), el valor obtenido para el enrofloxacino en cabra, ha sido de 1908,41  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 25). Ramesh y cols. (2002), tras la administración de una dosis de 7,5 mg/kg de enrofloxacino a cabras obtuvieron una  $C_{m\acute{a}x}$  mayor, 2900  $\mu\text{g/L}$ . En ovejas, con la misma dosis que nosotros, la  $C_{m\acute{a}x}$  es de 660  $\mu\text{g/L}$  (Rahal y cols., 2006), inferior a la de la cabra.

En otras especies animales se han descrito valores mayores de  $C_{m\acute{a}x}$  en alpacas, conejos y ganado vacuno: 4160, 2070 y 2910  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente (Gandolf y cols., 2005; Broome y cols., 1991; Stegemann y cols., 1997). En alpacas y conejos se usó la misma dosis que la utilizada en nuestro estudio, mientras que en vacas la dosis utilizada fue de 7,5 mg/kg.

Otros estudios describen resultados de  $C_{m\acute{a}x}$  menores. En vacas lactantes y vacas no lactantes, a igual dosis que en nuestro estudio, la  $C_{m\acute{a}x}$  de enrofloxacino es 980  $\mu\text{g/L}$  y 600  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente (Kaartinen y cols., 1995; De lucas y cols., 2008). Aún menor es en terneros (240  $\mu\text{g/L}$ ; McKellar y cols., 1999), aunque la dosis administrada fue la mitad.

En otras fluoroquinolonas descritas en cabras se han obtenido valores comparables de  $C_{m\acute{a}x}$  con los de nuestro estudio, como ocurre con el moxifloxacino (1804,23  $\mu\text{g/L}$ ; Fernández-Varón y cols., 2006a) y el orbifloxacino (1850  $\mu\text{g/L}$ ; Marín y cols., 2007a), si bien en el segundo caso se utilizó una dosis de 2,5 mg/kg.

Se han obtenido  $C_{m\acute{a}x}$  inferiores a los del enrofloxacino con el difloxacino (1330  $\mu\text{g/L}$ ; Marín y cols., 2007c) y el danofloxacino (1050  $\mu\text{g/L}$ ; Escudero y cols., 2007) con dosis de 6 mg/kg.



### 5.2.2.3.- CONSTANTE DE ABSORCIÓN Y SEMIVIDA DE ABSORCIÓN.

La ecuación 7 define la evolución de las concentraciones plasmáticas, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en cabras. Las constantes de absorción y eliminación, que se extraen de dicha ecuación no son reales, sino aparentes.

En este caso, la constante de absorción aparente ( $k_a$ ) es  $0,46 \text{ h}^{-1}$  (Tabla 25) y la vida media asociada a la misma ( $t_{1/2ka}$ ) 1,52 h.

Si comparamos el valor obtenido para  $t_{1/2ka}$  con el obtenido para  $t_{1/2\lambda_z}$  intravenoso, que es 10,44 h (Tabla 6), podemos observar como este último es casi 7 veces mayor, lo que indica que la fase de absorción no condiciona la eliminación del enrofloxacino en la cabra.

Sólo se dispone de valores de  $k_a$  de enrofloxacino tras su administración subcutánea en conejos y ovejas, cuyos valores son  $2,78 \text{ h}^{-1}$  y  $1,48 \text{ h}^{-1}$ , a los que les corresponden unos  $t_{1/2ka}$  de 0,3 h y 0,58 h, respectivamente (Broome y cols., 1991; Rahal y cols., 2006). Como podemos observar, estos últimos valores son inferiores al hallado en nuestro estudio, por lo que la absorción del enrofloxacino, tras su administración subcutánea, es mucho más rápida en conejos y ovejas que en las cabras.

En cabras, tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg en difloxacino (Marín y cols., 2007c) y moxifloxacino (Fernández-Varón y cols., 2006a) y de 2,5 mg/kg de orbifloxacino (Marín y cols., 2007a), el  $t_{1/2ka}$  es de 2,19 h, 1,71h y 0,63 h, respectivamente. Por tanto, la absorción es más lenta en el caso del difloxacino y moxifloxacino y más rápida en el caso de orbifloxacino.

### 5.2.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD.

El AUC, obtenido tras la administración subcutánea, alcanza un valor de 14645,76  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Tabla 28). Este valor es similar al obtenido en vacas en un estudio realizado por Davis y cols. (2007), en el que se administró una dosis de 12,5 mg/kg: 14950  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ .

En un estudio realizado en cabras, con una dosis de 7,5 mg/kg, se describió un AUC 1,3 veces superior al obtenido en nuestro estudio (19350 µg·h/L; Ramesh y cols., 2002).

En ovejas, el enrofloxacino, en igualdad de condiciones que en nuestro estudio, tiene un AUC aproximadamente 1,7 veces inferior a la cabra (8780 µg·h/L; Rahal y cols., 2006).

En terneros el AUC del enrofloxacino es muy inferior, 1397 µg·h/L, aunque se administró una dosis de 2,5 mg/kg (McKellar y cols., 1999). También en conejos (6090 µg·h/L; Broome y cols., 1991) y vacas lactantes (9620 µg·h/L; Kaartinen y cols., 1995) el AUC es inferior.

En alpacas, el AUC es 41900 µg·h/L (Gandolf y cols., 2005), muy superior al de la cabra.

El AUC permite calcular la biodisponibilidad (F) del fármaco, tras la administración subcutánea, mediante la siguiente ecuación:

$$F = \frac{AUC_{sc} \cdot D_{iv}}{AUC_{iv} \cdot D_{sc}} \cdot 100 \quad (8)$$

La biodisponibilidad obtenida es del 71% (Tabla 28).

En conejos (Broome y cols., 1991), se ha descrito un valor de biodisponibilidad similar, concretamente del 72,3%. En otros animales, como la alpaca (Gandolf y cols., 2005) o la vaca lactante (Kaartinen y cols., 1995), se han obtenido valores superiores de biodisponibilidad, cuando se administró el fármaco en las mismas condiciones que en nuestro estudio: 90,18% y 137%, respectivamente. En ovejas, la biodisponibilidad del enrofloxacino es menor, 50,62% (Rahal y cols., 2006).

Otras fluoroquinolonas estudiadas en cabras, tienen una biodisponibilidad mayor, tras su administración subcutánea: 90,16% el difloxacino (Marín y cols., 2007c) hasta un 108,96% el orbifloxacino (Marín y cols., 2007a).

### 5.2.3.- ESTUDIO DE CIPROFLOXACINO, METABOLITO ACTIVO DE ENROFLOXACINO, TRAS LA ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO.

#### 5.2.3.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.

La evolución de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino a cabras, se ha ajustado a los modelos mono y bicompartimentales, con ponderación y sin ponderación de los datos experimentales, y considerando que existe tiempo de latencia.

El AIC (Yamaoka y cols., 1978) indica el modelo monocompartimental abierto con absorción de primer orden (correspondiente a la formación de metabolito), como el más adecuado para describir la evolución de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, cuando se administra enrofloxacino por vía subcutánea, igual que se ha obtenido tras la administración intravenosa de enrofloxacino.

Existe tan sólo un estudio farmacocinético en ovejas, en el cual las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino se ajustan un modelo monocompartimental abierto (Rahal y cols., 2006).

De Lucas y cols. (2008) en vacas, Mckellar y cols. (1999) en terneros y Gandolf y cols. (2005) en alpacas, han utilizado métodos no compartimentales.

El modelo monocompartimental abierto tras la administración subcutánea, viene definido, como se vió en la página 170, por la ecuación 3:

$$C = C_z \cdot e^{-\lambda_z t} - C_f \cdot e^{-k_f t} \quad (3)$$

Dicha ecuación, adquiere valores distintos en cada animal (Tabla 33). Los estadísticos de dichos valores, así como los valores de los parámetros que resultan de las concentraciones medias, se muestran en la Tabla 34. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación, junto con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 35), revelan que los parámetros son homogéneos y no existen diferencias significativas para un mismo parámetro.

Por tanto, la ecuación que describe la evolución de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacino, obtenida con los parámetros medios, adopta el siguiente valor:

$$C = 16541580,0042 \cdot e^{-0,3343 t} - 16541580,0042 \cdot e^{-0,4506 t} \quad \mu\text{g/L} \quad (9)$$

Hay que señalar que los tiempos de latencia detectados en estos animales son despreciables y por ello los coeficientes ( $C_z$  y  $C_f$ ) resultantes son de igual magnitud.

En los Gráficos 29 y 30, se representan las concentraciones medias experimentales de manera directa y semilogarítmica, respectivamente. Los niveles de ciprofloxacino ascienden en una primera fase, correspondiente a la de formación del metabolito, hasta alcanzar un máximo alrededor de las 4 horas tras la administración del enrofloxacino. Posteriormente las concentraciones van disminuyendo de forma paulatina, en lo que podría considerarse una fase monoexponencial que se mantiene hasta el final del proceso.

### 5.2.3.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

Los parámetros farmacocinéticos más representativos, referidos a cada animal y a las concentraciones medias, obtenidos por análisis compartimental y no compartimental del ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacino a cabras se muestran en las Tablas 33 y 34.

Al igual que comentábamos en el estudio farmacocinético del ciprofloxacino tras la administración intravenosa de enrofloxacino, los parámetros farmacocinéticos del ciprofloxacino, al ser un producto del metabolismo del enrofloxacino, presentan gran variabilidad no solo entre distintas especies animales, sino entre ellas mismas, quizá por razones raciales e incluso individuales: estado fisiológico, nutritivo, productivo, edad, etc.

Existe una ausencia de estudios previos farmacocinéticos, en cabras, de ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacino.

### 5.2.3.2.1.- TIEMPO DE VIDA MEDIA Y MRT.

El ciprofloxacino, tiene una semivida ( $t_{1/2\lambda z}$ ), tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, de 2,1 h (Tabla 34). Comparando este valor de semivida con el obtenido en la vía intravenosa (2,49 h; Tabla 17), resulta ser ligeramente inferior (1,2 veces). Ello puede ser indicativo de que el proceso de formación del metabolito no se convierte en un factor limitante de la eliminación del mismo.

No es muy frecuente obtener un valor de semivida más bajo para la vía subcutánea que para la vía intravenosa, aunque este mismo hecho ha sido reportado en otras especies como el conejo (Broome y cols., 1991;  $t_{1/2\lambda z}$  iv = 2,5 h y  $t_{1/2\lambda z}$  sc = 1,71 h) o alpacas (Gandolf y cols., 2005;  $t_{1/2\lambda z}$  iv = 13,04 h y  $t_{1/2\lambda z}$  sc = 7,83 h). Quizá sea debido al hecho de que la administración intravenosa supone un aporte de sustrato (enrofloxacin) muy superior y más rápido (vía yugular y cava craneal frente a la vía venas intercostales, venas ácigos y cava caudal (der) o atrio derecho (izq)). En estas condiciones el hígado producirá ciprofloxacino de forma más lenta y en menor cantidad en un mismo periodo de tiempo tras la administración subcutánea, y los niveles plasmáticos se convierten rápidamente en indetectables, dando lugar a una eliminación aparentemente más rápida. Debemos señalar que este parámetro no sólo está condicionado por la absorción del enrofloxacin, sino, además, por el metabolismo hepático del mismo.

Sin embargo, lo más frecuente es lo contrario, que los  $t_{1/2\lambda z}$  encontrados tras la administración subcutánea sean superiores a los encontrados tras la administración intravenosa, como ocurre con el enrofloxacin en nuestro estudio y en ovejas (Rahal y cols., 2006) para el ciprofloxacino, tras la administración de igual dosis de enrofloxacin ( $t_{1/2\lambda z}$  iv = 2,37 h y  $t_{1/2\lambda z}$  sc = 4,11 h).

Estudios realizados en vacas reportan semividas superiores a los descritos en nuestro estudio: 9,67 h, con una dosis de 8 mg/kg de enrofloxacin vía subcutánea (Terhune y cols., 2005) y 7,25 h al administrar una dosis de 12,5 mg/kg (Davis y cols., 2007).

Rao y cols. (2001) reportan una semivida del ciprofloxacino en cabras inferior (1,38 h), tras administrar una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacin por vía intramuscular.

En cuanto al MRT, se ha obtenido un valor de 5,69 h (Tabla 34), 1,5 veces mayor que el descrito tras la administración intravenosa (3,73 h).

En la literatura se ha encontrado gran variabilidad en este parámetro dependiendo de la especie estudiada. Un MRT similar, 5,27 h, se ha descrito en vacas, tras administrar la misma dosis que en nuestro estudio (De Lucas y cols., 2008).

En ovejas (Rahal y cols., 2006), el MRT es 6,74 h, superior al hallado en nuestro estudio. En terneros (Mckellar y cols., 1999) es aún mayor, 1,9 veces (10,62 h).

En cabras, tras administrar por vía intramuscular una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino (Rao y cols., 2001), el MRT del ciprofloxacino es casi la mitad, 2,73 h.

### **5.2.3.2.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.**

El tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima o tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ) obtenido es 2,93 h (Tabla 34). Si lo comparamos con el  $T_{m\acute{a}x}$  obtenido en la vía intravenosa (0,64 h; Tabla 17), resulta ser casi 4,6 veces superior, por lo que la formación del ciprofloxacino será más prolongada cuando administramos el enrofloxacino vía subcutánea. Esto concuerda con que se produzcan menores concentraciones del metabolito y así parezca que la eliminación es más rápida.

Rao y cols. (2001) reportan, en cabras tras la administración intramuscular de enrofloxacino, un  $T_{m\acute{a}x}$  de 1,2 h, 2,4 veces menor.

La mayoría de los estudios realizados en otras especies, describen valores de  $T_{m\acute{a}x}$  superiores al de nuestro estudio, excepto en ovejas, que es 1,33 h (Rahal y cols., 2006).

En vacas el  $T_{m\acute{a}x}$  ha sido de 3,5 h (De Lucas y cols., 2008), 6 h (Terhune y cols., 2005) y 6,4 h (Davis y cols., 2007). En terneros (Mckellar y cols., 1999), el  $T_{m\acute{a}x}$  (3,25 h) es similar al descrito en vacas por De Lucas y cols. (2008).

Como se puede observar, en cabras y ovejas la formación del metabolito ciprofloxacino es más rápida que en las demás especies que hemos descrito.

En cuanto a la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), de ciprofloxacino en cabra es de 241,39  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 34), 1,9 veces menor que la obtenida para la vía intravenosa (452,08  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 17). Prácticamente el mismo valor fue obtenido para

ciprofloxacino en cabras cuando se administró una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino vía intramuscular (240 µg/L; Rao y cols., 2001).

En terneros (Mckellar y cols., 1999), la  $C_{m\acute{a}x}$  es 2,2 veces menor (110 µg/L), que en la cabra. En ovejas (Rahal y cols., 2006), la  $C_{m\acute{a}x}$  de ciprofloxacino, 50 µg/L, es muy inferior a la de nuestro estudio. Un valor similar, 60 µg/L, fue descrito en alpacas (Gandolf y cols., 2005). En ambas especies la dosis administrada de enrofloxacino fue de 5 mg/kg.

Se han descrito mayores  $C_{m\acute{a}x}$  en vacas: 390 µg/L (Terhune y cols., 2005) y 550 µg/L (Davis y cols., 2007). En el primer estudio la dosis de enrofloxacino administrada fue de 8 mg/kg, mientras que en el segundo, la dosis fue de 12,5 mg/kg.

### **5.2.3.2.3.- CONSTANTE DE FORMACIÓN Y SEMIVIDA DE FORMACIÓN.**

Tras la administración de enrofloxacino vía subcutánea, se ha obtenido un valor de la constante de formación aparente ( $k_f$ ) para el ciprofloxacino de  $0,45\text{ h}^{-1}$  y de la vida media asociada a la misma ( $t_{1/2kf}$ ) de 1,73 h (Tabla 34).

Si comparamos la  $t_{1/2kf}$  con la obtenida tras la administración intravenosa del enrofloxacino (0,15 h; Tabla 17), podemos observar como la formación del ciprofloxacino es mucho más lenta cuando se administra el enrofloxacino vía subcutánea. Esto puede condicionar concentraciones más bajas y menor permanencia en el organismo.

Lo contrario ocurre en la oveja (Rahal y cols., 2006), donde el valor obtenido por vía subcutánea (0,47 h) es inferior al descrito vía intravenosa (0,78 h). Tras la administración subcutánea, la  $t_{1/2kf}$  en oveja es 3,7 veces inferior a la de la cabra.

En cabras, tras la administración intramuscular de enrofloxacino (Rao y cols., 2001), la  $k_f$  para el ciprofloxacino es  $1,30\text{ h}^{-1}$  y  $t_{1/2kf}$  0,56 h, 3 veces menor que en nuestro estudio.

Por tanto, al contrario de lo que ocurre con la vía intravenosa, la formación de ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacino, resulta ser más rápida en ovejas que en cabras.

#### 5.2.3.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y RATIO DE METABOLITO.

El AUC obtenido para el ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino es de 1850,81  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 34), ligeramente inferior al obtenido para el ciprofloxacino cuando se administró el enrofloxacino vía intravenosa (1958,07  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tabla 17).

En ovejas (Rahal y cols., 2006), en igualdad de condiciones, el AUC es 300  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , muy inferior al de la cabra (aproximadamente 6,2 veces menor). En alpacas (Gandolf y cols., 2005), administrando una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino, el AUC también es muy inferior, 460  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ . También es inferior, 1,4 veces, en terneros (Mckellar y cols., 1999): 1359  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ .

Los demás estudios presentes en la literatura han sido realizados en vacas a diferentes dosis de enrofloxacino y en todos ellos se han obtenido valores de AUC muy superiores a los encontrados en nuestro estudio: 2190  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (De Lucas y cols., 2008), 3480  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Terhune y cols., 2005) y 10380  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Davis y cols., 2007), cuando se administró enrofloxacino vía subcutánea a dosis de 5, 8 y 12,5 mg/kg, respectivamente.

El AUC obtenido para el ciprofloxacino en cabras tras la administración intramuscular de una dosis de 2,5 mg/kg (Rao y cols., 2001), es 1380  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , inferior al descrito en nuestro estudio.

La ratio de metabolito (MR), expresada en porcentaje, y calculada con la ecuación 5 (página 177) es del 12,12 % de los niveles plasmáticos de enrofloxacino (Tabla 36). Esta ratio es superior a la hallada cuando se relacionaron los AUC de ciprofloxacino y enrofloxacino obtenidos tras la administración intravenosa de enrofloxacino, que fue del 9,16% (Tabla 19). En la oveja (Rahal y cols., 2006) ocurre lo contrario, la MR<sub>iv</sub> es mayor a la MR<sub>sc</sub> (8% frente al 4%).

La mayor MR descrita en los diferentes estudios se da en alpacas (Gandolf y cols., 2005), 52,1 %, seguida por la de los terneros (Mckellar y cols., 1999), 49%. En vacas las MR han sido del 30% (De Lucas y cols., 2008), 32% (Terhune y cols., 2005) y del 41% (Davis y cols., 2007), cuando se administró, vía subcutánea, las dosis de enrofloxacino de 5, 8 y 12,5 mg/kg, respectivamente. También es superior la MR obtenida por Rao y cols. (2001) en cabras tras la administración intramuscular de enrofloxacino: 36%



### 5.3.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% EN CABRAS.

#### 5.3.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.

La evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin, tras la administración subcutánea de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% (en adelante formulación SC1) a cabras, se ha ajustado a modelos mono y bicompartimentales, tanto con ponderación como sin ponderación de los datos experimentales.

Según el AIC, el modelo farmacocinético que mejor describe la evolución de las concentraciones de enrofloxacin tras su administración subcutánea en formulación SC1, es el modelo bicompartimental abierto con absorción de primer orden, al igual que ocurría tras la administración subcutánea sin polímero.

El análisis de regresión entre las concentraciones experimentales y teóricas de cada animal y para las concentraciones medias muestra una alta correlación (Tabla 40), por lo que no existen diferencias significativas entre las mismas y el ajuste obtenido es totalmente válido.

En la literatura no existen estudios farmacocinéticos realizados con enrofloxacin en fórmulas de liberación retardada como es el caso de la formulación SC1. Hay descrito un estudio de moxifloxacin en conejos, el cual se administró subcutáneamente en solución del polímero P407 al 30%. En este estudio, el análisis farmacocinético realizado fue no compartimental (Cárceles y cols., 2006).

En ovejas y conejos, se han obtenido ajustes a modelos monocompartimentales cuando se administró enrofloxacin vía subcutánea (Rahal y cols., 2006; Broome y cols., 2001).

Ajustes a modelo bicompartimental se ha descrito en el caso de orbifloxacin (Marín y cols., 2007a) y difloxacin (Marín y cols., 2007b), tras su administración vía subcutánea a cabras.

El modelo bicompartimental abierto tras una dosis subcutánea, viene definido por la siguiente ecuación:

$$C = C_1 \cdot e^{-\lambda_1 t} + C_z \cdot e^{-\lambda_z t} + C_a \cdot e^{-k_a t} \quad (10)$$

La ecuación 10, adquiere valores distintos en cada animal, que se muestran en la Tabla 41. Los valores de los parámetros que resultan de las concentraciones medias, así como los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 42. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación junto con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 43), revelan que los parámetros son homogéneos y se ajustan a una distribución normal.

Por tanto, la ecuación que mejor describe la evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino en formulación SC1 en cabra, tras su administración subcutánea, obtenida con los parámetros medios, adopta el siguiente valor:

$$C = 18229,7919 \cdot e^{-0,2110 t} + 158,2769 \cdot e^{-0,0365 t} - 18388,0688 \cdot e^{-0,3143 t} \mu\text{g/L} \quad (11)$$

En el Gráfico 38, se representan las concentraciones medias experimentales de manera directa, en la cual se observa como los niveles de enrofloxacino aumentan durante la primera fase de absorción del fármaco, descienden rápidamente en la fase posterior y, a partir de este momento disminuyen de forma más paulatina, dando lugar a una tercera fase, que podría considerarse monoexponencial y que se mantiene hasta el final del proceso (hasta las 96 horas tras la administración). Este hecho se aprecia más claramente al observar la representación semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 39).

La transformación de esta recta semilogarítmica, en su ecuación exponencial correspondiente, desarrolla la expresión triexponencial indicada en la ecuación 11, con tres fases exponenciales: absorción, regida por la constante de absorción ( $K_a$ ), disposición rápida, descrita por la constante de disposición rápida ( $\lambda_1$ ), rige fundamentalmente los procesos de distribución, y la disposición lenta que viene dada por la constante de disposición lenta ( $\lambda_2$ ), que rige los procesos de eliminación.

### **5.3.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.**

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental del enrofloxacino en formulación SC1, se muestran en las Tablas 41 y 42. En las Tablas 44 y 45 aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales. Todos los parámetros van referidos a cada animal y a sus concentraciones medias.

### 5.3.2.1.- TIEMPOS DE VIDA MEDIA, MRT Y MAT.

El tiempo de vida media de la fase de disposición rápida ( $t_{1/2\lambda_1}$ ) para enrofloxacino ha sido 3,33 h y el tiempo de vida media de la fase de disposición lenta ( $t_{1/2\lambda_2}$ ), considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982), 19,97 h (Tabla 42).

El  $t_{1/2\lambda_1}$  obtenido resulta ser casi 1,9 y 1,8 superior a los obtenidos tras la administración intravenosa y subcutánea sin polímero (Tablas 6 y 25), que son de 1,16 y 1,82 h, respectivamente.

En cuanto al  $t_{1/2\lambda_2}$ , resulta ser casi 1,9 veces superior al obtenido tras la administración intravenosa (10,44 h; Tabla 6), y 1,6 veces superior al obtenido tras la administración subcutánea sin polímero (12,42 h; Tabla 25). Esto puede ser indicativo de que el proceso de absorción, al igual que en la administración subcutánea sin polímero, puede ser en un factor limitante de la eliminación.

Si comparamos la semivida del fármaco obtenida en nuestro estudio al administrar el enrofloxacino en formulación SC1, con el valor obtenido en otro estudio en cabras cuando se administró vía subcutánea sin polímero a la dosis de 7,5 mg/kg (Ramesh y cols., 2002), la diferencia llega a ser muy superior a la obtenida en el nuestro, hasta 7 veces. Más elevada aún, resulta cuando la comparamos con la semivida de enrofloxacino, tras su administración subcutánea sin polímero, en otros animales tales como la oveja, vaca, alpaca o ternero.

En conejos, cuando se administró moxifloxacino en solución del polímero P407 al 30% vía subcutánea a una dosis de 30 mg/kg, se obtuvo un valor de semivida del fármaco de 11,09 h, siendo este valor, al igual que ocurría en nuestro estudio, superior (5,2 veces) al obtenido para la vía intravenosa y (2 veces) para la subcutánea sin polímero (Cárceles y cols., 2006). En el conejo la semivida del moxifloxacino con el polímero es un 55,5% menor que la del enrofloxacino en la cabra.

Por otro lado, el valor del MRT alcanza un valor de 10,13 h (Tabla 45). Este parámetro es 2,9 veces mayor al descrito tras la administración intravenosa (3,47 h; Tabla 11). Igualmente, es casi 1,7 veces superior al obtenido vía subcutánea sin polímero (6,06 h; Tabla 28).

Si nos fijamos en los valores de MRT obtenidos en otros animales cuando se les administró enrofloxacino vía subcutánea sin polímero, podemos destacar que en alpacas

y ovejas, se obtuvieron valores de MRT similares a los obtenidos en nuestro estudio al administrar el enrofloxacino en formulación SC1. Estos valores fueron de 10,33 h para las alpacas (Gandolf y cols., 2005) y de 11,23 h para las ovejas (Rahal y cols., 2006).

Diferencias similares a las obtenidas en nuestro estudio entre los valores de MRT para las diferentes vías (intravenosa, subcutánea y subcutánea con polímero), se describen en conejo cuando se le administró moxifloxacino por las vías comentadas, siendo los valores de MRT de 2,61 h, 5,21 h y 7,99 h, para las vías intravenosa, subcutánea y subcutánea en solución del polímero P407 al 30%, respectivamente (Cárceles y cols., 2006).

En las Tablas 44 y 45, se presentan los valores correspondientes a los MRT y el tiempo medio de absorción (MAT) subcutáneos cuando se administró enrofloxacino en formulación SC1; en tanto que el MRT intravenoso aparece en las Tablas 10 y 11. A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar como todos los animales presentan un valor de MAT superior al MRT intravenoso. Si se consideran los valores medios obtenidos, resulta que el MRT intravenoso (3,47 h) resulta entorno a 1,9 veces inferior al MAT subcutáneo tras la administración del enrofloxacino en formulación SC1 (6,66 h). De ello se concluye que, en principio, la absorción, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en formulación SC1, condiciona su eliminación.

Valores similares de MAT se han obtenido en vacas lactantes, al administrar el enrofloxacino vía subcutánea sin polímero, concretamente de 6,92 h (Kartinen y cols., 1995). En la oveja, se han señalado valores de MAT superiores (8,01 h; Rahal y cols., 2006). En ambos estudios, el MAT es mayor que el MRT intravenoso.

Cuando se administró moxifloxacino en conejo vía subcutánea en solución del polímero P407 al 30%, se obtuvo un valor de MAT de 2,39 h, inferior al MRT intravenoso (2,61 h) (Cárceles y cols., 2006). Si bien, esta diferencia es mínima, ocurría al contrario que en nuestro estudio, en el que el valor de MAT es muy superior al MRT intravenoso.

### 5.3.2.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.

El  $T_{m\acute{a}x}$  ha resultado ser 4,03 h (Tabla 42). Si lo comparamos con el  $T_{m\acute{a}x}$  obtenido en la vía subcutánea sin polímero (2,43 h; Tabla 25), resulta ser casi del doble.

Un valor algo superior, concretamente de 4,92 h, se obtuvo en conejos cuando se administró moxifloxacino en solución del polímero P407 al 30%, que resultó ser unas 6 veces superior al obtenido sin polímero vía subcutánea (Cárceles y cols., 2006).

Para el enrofloxacinó administrado por vía subcutánea sin polímero se han obtenido valores de  $T_{m\acute{a}x}$  menos prolongados en ovejas (2 h; Rahal y cols., 2006) y terneros (1,28 h; De Lucas y cols., 2008). Sin embargo, valores más prolongados de  $T_{m\acute{a}x}$  se han descrito en alpacas (6 h; Gandolf y cols., 2005).

La  $C_{m\acute{a}x}$ , obtenida para enrofloxacinó en formulación SC1 en cabra, ha sido de 2935,74  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 42), 1,5 veces superior a la  $C_{m\acute{a}x}$  alcanzada tras la administración subcutánea sin polímero (1908,41  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 25). Teniendo en cuenta que la administración del enrofloxacinó junto con polímero se hizo a una dosis 3 veces superior (15 mg/kg, en lugar de 5 mg/kg), resulta inferior (en teoría algo más de la mitad).

En cabras y ganado vacuno, tras la administración de una dosis de 7,5 mg/kg de peso de enrofloxacinó sin polímero, se obtuvieron valores de  $C_{m\acute{a}x}$  algo superiores, 2900  $\mu\text{g/L}$  (Ramesh y cols., 2002) y 2910  $\mu\text{g/L}$  (Stegemann y cols., 1997).

En el estudio realizado en conejos por Cárceles y cols. (2006), en el que se administró una dosis de 30 mg/kg de moxifloxacino en solución del polímero P407 al 30%, se obtuvo una  $C_{m\acute{a}x}$  inferior, concretamente de 1830  $\mu\text{g/L}$ , concentración similar a la hallada cuando se administró el moxifloxacino sin polímero (1610  $\mu\text{g/L}$ ).

En alpacas, se ha obtenido una  $C_{m\acute{a}x}$  muy elevada para enrofloxacinó cuando se administró a una dosis de 5 mg/kg: 4160  $\mu\text{g/L}$ , 1,4 veces superior que el valor descrito en nuestro estudio (Gandolf y cols., 2005).

En nuestro experimento la concentración inicial alcanzada por vía intravenosa, es aproximadamente 4 veces superior a las concentraciones máximas experimentales alcanzadas cuando se administró una dosis de 15 mg/kg junto con polímero vía subcutánea.

### 5.3.2.3.- CONSTANTE DE ABSORCIÓN Y SEMIVIDA DE ABSORCIÓN.

Tras la administración de enrofloxacinó en formulación SC1 a cabras, se ha obtenido un valor aparente de la constante de absorción ( $k_a$ ) de  $0,31 \text{ h}^{-1}$  (Tabla 42) y de la vida media asociada a la misma ( $t_{1/2ka}$ ) de 2,29 h (Tabla 42).

Si comparamos la  $t_{1/2ka}$  con la obtenida tras la administración subcutánea del enrofloxacinó sin polímero (1,52 h; Tabla 25), podemos observar como la absorción es 1,5 veces más lenta cuando se administra el fármaco en formulación SC1. De ahí las propiedades del polímero en retardar la liberación del fármaco y por tanto en alcanzar la circulación sanguínea y mantener concentraciones plasmáticas más duraderas.

Si comparamos el valor de  $t_{1/2ka}$  con el  $t_{1/2\lambda z}$  intravenoso, que fue de 10,44 h (Tabla 6), podemos observar como este último es casi 4,6 veces mayor, lo que nos podría indicar que la fase de absorción no condiciona la eliminación del enrofloxacinó en la cabra.

Cárceles y cols. (2006), en su estudio realizado con moxifloxacinó en solución del polímero P407 al 30% en conejos obtuvieron una  $k_a$  de  $0,42 \text{ h}^{-1}$ , y un  $t_{1/2ka}$  de 1,66 h. Si se compara el valor obtenido, con el descrito en el mismo estudio cuando se administró el moxifloxacinó sin polímero vía subcutánea ( $k_a = 0,32 \text{ h}^{-1}$  y de  $t_{1/2ka} = 2,17 \text{ h}$ ), se puede observar que la absorción es más rápida cuando se administró el moxifloxacinó con polímero, al contrario de lo que ocurría en nuestro caso.

En conejos y ovejas, los  $t_{1/2ka}$  para el enrofloxacinó, cuando se administró una dosis de 5 mg/kg, sin polímero, han sido inferiores a los obtenidos en nuestro estudio tanto con como sin polímero: 0,3 h (Broome y cols., 1991) y 0,58 h (Rahal y cols., 2006), respectivamente. Por tanto, la absorción de enrofloxacinó tras su administración subcutánea resulta ser mucho más rápida en conejos y ovejas que en cabras.

En cabras, tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de difloxacinó, se ha registrado un  $t_{1/2ka}$  parecido al obtenido en nuestro estudio al administrar enrofloxacinó en formulación SC1: 2,19h (Marín y cols., 2007c).

#### **5.3.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD.**

El AUC, obtenido tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg del enrofloxacino en formulación SC1, alcanza un valor de 37483,41  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Tabla 45).

Si lo comparamos con el obtenido para el moxifloxacino, cuando se administró junto con polímero P407 al 30% a conejos vía subcutánea a una dosis de 30 mg/kg (14520  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ ; Cárceles y cols., 2006), resulta ser 2,6 veces mayor.

La biodisponibilidad obtenida ha sido del 55,81% (Tabla 45). Como podemos observar, la asociación del polímero hace que la biodisponibilidad sea inferior, ya que el valor de biodisponibilidad obtenido cuando se administró el enrofloxacino vía subcutánea sin polímero fue del 71% (Tabla 28), reduciéndose aproximadamente en un 15% si se compara con la vía subcutánea o en casi un 45% si se compara con la vía intravenosa.

Esta disminución en la biodisponibilidad también se detecta en el estudio realizado en conejos cuando se utilizó el polímero P407 al 30% junto con moxifloxacino tras su administración subcutánea (Cárceles y cols., 2006). En este caso el valor obtenido fue del 44% muy inferior al obtenido por vía subcutánea sin polímero, que fue del 117%. Como se puede observar, la biodisponibilidad se redujo un 56% respecto a la vía intravenosa del fármaco en conejos, un valor algo superior al obtenido en nuestro estudio.

### 5.3.3.- ESTUDIO DE CIPROFLOXACINO, METABOLITO ACTIVO DE ENROFLOXACINO, TRAS LA ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25%.

#### 5.3.3.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.

En todos los animales estudiados, y para las concentraciones medias, el AIC indica un mejor ajuste al modelo monocompartimental abierto con absorción de primer orden (correspondiente a la formación de metabolito) para ciprofloxacino cuando es administrado el enrofloxacin en formulación SC1 a una dosis de 15 mg/kg por vía subcutánea. Esto concuerda con lo que ocurre cuando se administra en enrofloxacin sin polímero en la cabra y en la oveja (Rahal y cols., 2006).

En vacas (De Lucas y cols., 2008), terneros (Mckellar y cols., 1999) y alpacas (Gandolf y cols., 2005), se han realizado estudios no compartimentales de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de enrofloxacin sin polímero.

El modelo monocompartimental abierto del ciprofloxacino tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC1 por vía subcutánea, viene definido por la siguiente ecuación:

$$C = C_z \cdot e^{-\lambda_z t} - C_f \cdot e^{-k_f t} \quad (3)$$

La ecuación 3 adquiere valores distintos en cada animal, que se muestran en la Tabla 50. Igualmente, los estadísticos de desviación de dichos valores, así como los valores de los parámetros que resultan de las concentraciones medias, se muestran en la Tabla 51. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación, junto con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 52), revelan que los parámetros son homogéneos y no existen diferencias significativas para un mismo parámetro.

Por tanto, la ecuación que describe la evolución de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacin en formulación SC1, obtenida con los parámetros medios, adopta el siguiente valor:



$$C = 628,4434 \cdot e^{-0,1313 t} - 628,4434 \cdot e^{-0,3773 t} \quad \mu\text{g/L} \quad (12)$$

Al igual que ocurría con la vía intravenosa y subcutánea, los tiempos de latencia detectados en estos animales son despreciables y por ello los coeficientes ( $C_z$  y  $C_f$ ) resultantes son de igual magnitud.

En los Gráficos 45 y 46, se representan las concentraciones medias experimentales de manera directa y semilogarítmica, respectivamente. La representación directa de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 45), pone de manifiesto que los niveles de ciprofloxacino ascienden en una primera fase, correspondiente a la de formación del metabolito, durante las primeras 6 horas posteriores a la administración del enrofloxacino, para posteriormente ir disminuyendo de forma paulatina, en lo que podría considerarse una monoexponencial y que se mantiene hasta el final del proceso (hasta las 32 horas tras la administración del enrofloxacino). Si comparamos el Gráfico 35 con la representación gráfica de las concentraciones plasmáticas del cirprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacino sin polímero (Gráfico 29), podemos observar que la formación del metabolito se prolonga durante 2 horas más (la fase de formación de metabolito acababa a las 4 horas de la administración del enrofloxacino) y la fase de eliminación se prolonga hasta 10 horas más.

### 5.3.3.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

Los parámetros farmacocinéticos más representativos del ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC1 a cabras, obtenidos por análisis compartimental y no compartimental, de cada animal y de las concentraciones medias, se muestran en las Tablas 50 y 51.

Al igual que comentábamos en el estudio farmacocinético del ciprofloxacino tras la administración intravenosa y subcutánea de enrofloxacino, los parámetros farmacocinéticos del ciprofloxacino, al ser un producto del metabolismo del enrofloxacino, presentan gran variabilidad inter e intraespecie

También es importante señalar, la ausencia en la literatura de estudios farmacocinéticos, en cabras o en otras especies animales, de ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacino con alguna fórmula de liberación retardada

como es el polímero P407. Con este polímero, como se comentó anteriormente, existe un estudio realizado para el moxifloxacino en el conejo (Cárceles y cols., 2006), pero sin investigar sus metabolitos.

### 5.3.3.2.1.- TIEMPO DE VIDA MEDIA Y MRT.

En el caso del ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC1, el  $t_{1/2\lambda z}$ , considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982), ha sido 6,11 h (Tabla 51). Si lo comparamos con el obtenido para el ciprofloxacino tras la administración intravenosa de enrofloxacino (2,49 h; Tabla 17), resulta ser, aproximadamente, 2,5 veces superior. Una diferencia mayor se observa cuando lo comparamos con el descrito en nuestro estudio para el ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacino (2,01 h; Tabla 34), aproximadamente 3 veces más. Esto puede ser indicativo de que el proceso de formación del metabolito, al añadir el polímero P407, al contrario que en la administración subcutánea sin polímero, puede convertirse en un factor limitante de la eliminación, si bien hay que tener en cuenta que la dosis administrada de enrofloxacino cuando se utilizó el polímero P407 fue el triple de la utilizada sin él, tanto vía subcutánea como intravenosa.

También es superior, 4,73 veces, al encontrado por Rao y cols. (2001), al administrar una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino por vía intramuscular a cabras (1,38 h) y al reportado por Rahal y cols. (2006) en ovejas tras la administración de 5 mg/kg de enrofloxacino (4,11 h).

Aunque al añadir el polímero P407 al 25% y aumentar la dosis administrada de enrofloxacino a 15 mg/kg, aumenta la semivida respecto a la administración sin polímero, la semivida descrita en nuestro estudio (6,11 h; Tabla 51) sigue siendo inferior a las semividas del ciprofloxacino en vacas tras la administración de una dosis de 8 y 12,5 mg/kg de enrofloxacino sin polímero P407 (9,67 h, Terhune y cols., 2005 y 7,25 h, Davis y cols., 2007).

En conejos, cuando se administró moxifloxacino en solución del polímero P407 al 30% vía subcutánea a una dosis de 30 mg/kg, se obtuvo una semivida de 11,09 h (Cárceles y cols., 2006), valor muy superior al del ciprofloxacino, como producto del metabolismo del enrofloxacino.

El MRT alcanza un valor de 13,09 h (Tabla 51), y es 3,5 veces mayor que el descrito para la vía intravenosa (3,73 h; Tabla 17), y casi 2 veces superior al obtenido vía subcutánea sin polímero (6,69 h; Tabla 34).

En estudios realizados en terneros y vacas, cuando se administró enrofloxacino sin polímero vía subcutánea a diferentes dosis, el MRT del ciprofloxacino, es inferior: 10,62 h (Mckellar y cols., 1999) y 5,27 h, (Lucas y cols., 2008), respectivamente.

En cabras en las que se administró una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino vía intramuscular (Rao y cols., 2001), el MRT del ciprofloxacino es muy inferior (4,8 veces) al hallado en nuestro estudio: 2,73 h.

El valor de MRT obtenido en nuestro estudio también supera al obtenido en ovejas tras administrar una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino sin polímero, en 1,9 veces (6,74 h; Rahal y cols., 2006).

#### **5.3.3.2.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.**

El  $T_{m\acute{a}x}$  obtenido ha sido de 5,09 h (Tabla 51). Al compararlo con el  $T_{m\acute{a}x}$  intravenoso (0,64 h; Tabla 17), observamos que es, aproximadamente, 8 veces superior. Además, es 1,7 veces superior al obtenido por vía subcutánea sin polímero (2,93h; Tabla 34), por lo que, la administración de enrofloxacino con polímero hace que la formación del metabolito ciprofloxacino sea más prolongada.

Si comparamos el valor obtenido para la cabra en nuestro estudio con el  $T_{m\acute{a}x}$  descrito en ovejas (1,33 h; Rahal y cols., 2006), cuando se administró enrofloxacino sin polímero, observamos que lo supera en 3,8 veces.

Valores superiores de tiempo máximo para el ciprofloxacino se han obtenido en vacas, concretamente de 6 h (Terhune y cols., 2005) y 6,4 h (Davis y cols., 2007), en las que se administró el enrofloxacino vía subcutánea pero sin polímero.

Una  $T_{m\acute{a}x}$  de 4,92 h fue descrita por Cárceles y cols. (2006), para el moxifloxacino cuando se administró una dosis de 30 mg/kg en solución del polímero P407 al 30% en conejos vía subcutánea.

En cuanto a la  $C_{m\acute{a}x}$ , el valor obtenido para el ciprofloxacino en cabra tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC1, ha sido de 329,65  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 51).

Al comparar con lo encontrado al administrar el enrofloxacin en la cabra sin polímero, hay que recordar que la dosis utilizada para la vía subcutánea (sin polímero P407) e intravenosa fue de 5 mg/kg, si hacemos la corrección correspondiente (multiplicando por 3), la  $C_{m\acute{a}x}$  subcutánea con polímero es 2,2 veces menor que la obtenida sin polímero (241,39  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 34) y 4,1 veces menor que la  $C_{m\acute{a}x}$  intravenosa.

Un valor aproximado de  $C_{m\acute{a}x}$  para el ciprofloxacino fue obtenido en vacas cuando se administró una dosis de 8 mg/kg de enrofloxacin sin polímero, 390  $\mu\text{g/L}$  (Terhune y cols., 2005).

Comparando el valor obtenido en nuestro estudio con el que describe Rao y cols. (2001), en cabras (240  $\mu\text{g/L}$ ), tras la administración de una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacin por vía intramuscular y sin polímero, podemos decir que nuestro resultado es algo mayor.

### **5.3.3.2.3.- CONSTANTE DE FORMACIÓN Y SEMIVIDA DE FORMACIÓN.**

Tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de la formulación SC1 vía subcutánea a cabras, se ha obtenido una constante de formación aparente ( $k_f$ ) para el ciprofloxacino de 0,38  $\text{h}^{-1}$  y una semivida de formación del metabolito ciprofloxacino ( $t_{1/2kf}$ ) de 2,58 h (Tabla 51).

Al comparar esta  $t_{1/2kf}$  con la intravenosa (0,15 h; Tabla 17), podemos observar que la formación del metabolito es mucho más lenta cuando se administra el enrofloxacin vía subcutánea en formulación SC1. Igualmente resulta ser superior al valor descrito para la misma vía pero sin polímero P407 (1,73 h; Tabla 34), superándolo 1,5 veces.

La  $t_{1/2kf}$  del ciprofloxacino encontrado en nuestro estudio supera en 2,11 h el valor obtenido en ovejas, cuando se administró el enrofloxacin sin polímero vía subcutánea (Rahal y cols., 2006). Igualmente supera en 2 h el valor descrito en cabras

para el ciprofloxacino, cuando se administró una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino sin polímero vía intramuscular (Rao y cols., 2001).

Es por todo ello que en cabras, al administrar el enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC1, se obtiene un valor de  $t_{2kf}$  más elevado y por tanto la formación del metabolito ciprofloxacino es más prolongada.

#### **5.3.3.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y RATIO DE METABOLITO.**

El valor de AUC obtenido para el ciprofloxacino tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC1 alcanza un valor de 5520,96  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 51).

Este AUC del ciprofloxacino es muy superior al hallado cuando administramos el enrofloxacino vía intravenosa y subcutánea, concretamente es casi 3 veces cuando administramos el enrofloxacino vía subcutánea (1850,81  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tabla 34) y 2,8 veces cuando se administró el enrofloxacino vía intravenosa (1958,07  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tabla 17), si bien hay que tener en cuenta que la dosis administrada de enrofloxacino por vía subcutánea sin polímero e intravenosa fue de 5 mg/kg.

El valor de AUC obtenido para el ciprofloxacino una vez administrado el enrofloxacino en formulación SC1 vía subcutánea es muy superior al descrito en otras especies cuando fue administrado sin polímero a una dosis de 5 mg/kg, llegando a ser hasta 18,4 veces superior al reportado en ovejas (300  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Rahal y cols., 2006).

Respecto a otra fluorquinolona como es el moxifloxacino, cuando se administró junto con polímero P407 al 30% a conejos a una dosis de 30 mg/kg, se obtuvo un valor de AUC de 14520  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Cárceles y cols., 2006), valor muy superior al descrito para el ciprofloxacino como metabolito del enrofloxacino en cabras.

La ratio de metabolito (MR), expresada en porcentaje, calculada según la ecuación 5, para el ciprofloxacino, alcanza en el presente caso un valor de 16,75% (Tabla 53). Esta ratio es superior a la hallada cuando se relacionaron los AUC de ciprofloxacino y enrofloxacino obtenidos tras la administración intravenosa de enrofloxacino, y cuando se relacionaron los AUC de ciprofloxacino y enrofloxacino obtenidos tras la administración subcutánea de enrofloxacino sin polímero P407, los cuales fueron de 9,16 y 12,12%, respectivamente (Tablas 19 y 36).

El valor descrito de MR en nuestro estudio sigue siendo muy inferior al hallado cuando se administró el enrofloxacino vía subcutánea, en vacas (30%, De Lucas y cols., 2008) y en alpacas (52,1%, Gandolf y cols., 2005).

Tampoco supera el 36% del MR descrito en cabras para el ciprofloxacino tras administrar una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino vía intramuscular (Rao y cols., 2001). Por otra parte, el valor de MR de nuestro estudio supera al 4% obtenido en ovejas cuando se administró el enrofloxacino vía subcutánea (Rahal y cols., 2006).

## **5.4.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2% EN CABRAS.**

### **5.4.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.**

Teniendo en cuenta los valores más favorables de AIC (menores), se ha comprobado que la evolución de las concentraciones plasmáticas en todos los animales así como para las concentraciones medias, se ajustan a un modelo bicompartimental con ponderación. Por tanto, podemos concluir que el modelo farmacocinético bicompartimental abierto es el que mejor describe la evolución de las concentraciones plasmáticas experimentales obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (en adelante formulación SC2) en cabras.

Como en ocasiones anteriores, para poder verificar la bondad del ajuste, se calcularon las concentraciones teóricas correspondientes a cada animal y las concentraciones teóricas medias a los mismos tiempos utilizados en la fase experimental y se ha procedido a realizar un análisis de regresión. En la Tabla 57 se muestran los resultados de dicho estudio, en el cual se puede comprobar que no existen diferencias significativas entre las mismas ( $p > 0,001$ ), por lo que las concentraciones teóricas son plenamente representativas del proceso y el ajuste obtenido es totalmente válido.

No se han realizado estudios experimentales farmacocinéticos con enrofloxacin en formulación SC2, pero este resultado concuerda con lo que hemos encontrado con la formulación SC1. Un estudio con una formulación de moxifloxacin con P407 al 30%, es el ya comentado de Cárceles y cols. (2006) en conejos, pero realizan un análisis no compartimental.

Para cada animal se ha obtenido la ecuación de ajuste (Tabla 58). Para hallar la ecuación que mejor define la evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin en la cabra, se deben llevar a cabo estudios estadísticos que permitan calcular los valores medios para cada uno de los parámetros que intervienen en la misma. De este modo, los estadísticos correspondientes a los parámetros farmacocinéticos, deducidos a partir de las concentraciones plasmáticas experimentales, así como los resultados del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, se muestran en las Tablas 59 y 60.

Por consiguiente, la ecuación que define la evolución de las concentraciones plasmáticas experimentales, en la cabra tras la administración intravenosa, de una dosis única de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC2 en cabra, adquiere el siguiente valor:

$$C = 7202,8055 \cdot e^{-0,1879 t} + 153,2649 \cdot e^{-0,0158 t} - 7356,0704 \cdot e^{-0,3328 t} \quad (13)$$

En el Gráfico 54, se representan las concentraciones medias experimentales de manera directa, en la que se observa un aumento de los niveles de enrofloxacin durante la primera fase (absorción del fármaco), un descenso rápido en la fase posterior hasta aproximadamente las 24 horas (2ª fase) y, a partir de este momento un descenso más lento, dando lugar a una tercera fase, que podría considerarse monoexponencial y que se mantiene hasta el final del proceso (hasta las 120 horas tras la administración). Este hecho se aprecia más claramente al observar la representación semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 55).

#### **5.4.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.**

A continuación se van a comentar los parámetros farmacocinéticos más representativos del enrofloxacin en formulación SC2 tras su administración subcutánea a cabras. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental para cada uno de los animales y para las concentraciones medias se muestran en las Tablas 58 y 59 (modelo bicompartimental), respectivamente. En las Tablas 61 y 62 aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales del fármaco referentes a cada animal y para las concentraciones medias, respectivamente.

##### **5.4.2.1.- TIEMPOS DE VIDA MEDIA, MRT Y MAT.**

Se ha calculado el tiempo de vida media de la fase de disposición rápida ( $t_{1/2\lambda 1}$ ) para enrofloxacin y el tiempo de vida media de la fase de disposición lenta ( $t_{1/2\lambda z}$ ), considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982), al igual que en la vía intravenosa y subcutáneas anteriores. Estos valores son de 4,24 y 48,31 h, respectivamente (Tabla 59).



El  $t_{1/2\lambda_1}$  (4,24 h) resulta ser casi 3,7 veces superior al obtenido tras la administración intravenosa (1,16 h; Tabla 6). Si lo comparamos con las administraciones subcutáneas con y sin el polímero P407, podemos observar que el valor de  $t_{1/2\lambda_1}$  es 2,3 y 1,3 veces superior, respectivamente. Por tanto, esta formulación SC2 de enrofloxacino ralentiza el  $t_{1/2\lambda_1}$  respecto a cuando se administra con la formulación SC1 (3,33 h; Tabla 42), que, a su vez, ralentiza este parámetro a cuando se administra sin polímero (1,82 h; Tabla 25).

En cuanto al  $t_{1/2\lambda_z}$ , el valor obtenido (48,31 h; Tabla 59) resulta ser casi 4,6 veces superior al obtenido tras la administración intravenosa (10,44 h; Tabla 6). Igualmente, si la comparamos con las vías subcutáneas sin y con el polímero P407, el resultado es que cuando se administra el enrofloxacino en formulación SC2, supera en 3,9 veces la vida media del enrofloxacino administrado sin polímero (12,42 h; Tabla 25) y en 2,4 veces la vida media del enrofloxacino administrado en formulación SC1 (19,97 h; Tabla 42). Esto puede ser indicativo de que el proceso de absorción, al igual que en la administración subcutánea sin y con el polímero, puede convertirse en un factor limitante de la eliminación.

Ramesh y cols. (2002), dan un valor de  $t_{1/2\lambda_1}$  para enrofloxacino, administrado en cabras vía subcutánea a una dosis de 7,5 mg/kg, de 2,84 h. Según el dato obtenido en nuestro estudio al administrar el enrofloxacino en formulación SC2, la semivida del fármaco es 17 veces superior, si bien la dosis administrada en nuestro estudio fue de 15 mg/kg. Lo mismo ocurre si comparamos este valor de semivida con los obtenidos cuando se administra enrofloxacino, vía subcutánea, sin polímero en otros animales tales como la oveja, vaca, alpaca o ternero.

El MRT alcanza, en este caso, un valor de 26,09 h (Tabla 62). Este parámetro al compararlo con el valor descrito en la vía intravenosa es 8,4 veces mayor (3,47 h; Tabla 11). También es superior, en 4,3 veces, al obtenido vía subcutánea sin polímero (6,06 h; Tabla 28) y en 2,6 veces cuando se administra vía subcutánea con formulación SC1 (10,13 h; Tabla 45).

Si comparamos el valor obtenido de MRT cuando se administra el enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC2, con el obtenido en otros animales al administrarlo solo, podemos ver que es muy superior, ya que los valores de MRT reportados oscilan entre 1,46 h en conejos (Broome y cols., 1991) y 11,23 h en ovejas (Rahal y cols., 2006).

En las Tablas 61 y 62, se presentan los valores correspondientes al MRT y el tiempo medio de absorción (MAT) subcutáneos cuando se administró enrofloxacino en formulación SC2. El MRT intravenoso aparece en las Tablas 10 y 11. A la vista de los resultados obtenidos, se puede apreciar como todos los animales presentan un valor de MAT muy superior al MRT intravenoso. Si se consideran los valores medios obtenidos, el MRT intravenoso (3,47 h) resulta ser entorno a 6,5 veces inferior al MAT subcutáneo obtenido tras la administración del enrofloxacino en formulación SC2 (22,62 h). De ello se concluye que, en principio, la absorción, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en esta formulación, condiciona su eliminación.

Valores muy inferiores de MAT se han obtenido en otros animales en los que se ha administrado el enrofloxacino sin polímero siendo el mayor valor descrito de 8,01 h en ovejas (Rahal y cols., 2006).

#### **5.4.2.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.**

El valor de  $T_{m\acute{a}x}$  obtenido para el enrofloxacino administrado en formulación SC2 es 4,34 h (Tabla 59), similar al descrito cuando administramos por vía subcutánea el enrofloxacino con sólo formulación SC1 (4,03 h; Tabla 42). Sin embargo, si lo comparamos con el  $T_{m\acute{a}x}$  hallado cuando administramos el enrofloxacino vía subcutánea sin el polímero P407, la diferencia es considerable, siendo el valor de este último 1,8 veces inferior (2,43 h; Tabla 25). Es decir, el administrar el enrofloxacino en formulación SC1 o SC2 retrasa el  $T_{m\acute{a}x}$  de enrofloxacino en plasma de cabra.

Como se comentó anteriormente, valores de  $T_{m\acute{a}x}$  menos prolongados se han obtenido en otros animales en los que se administró enrofloxacino vía subcutánea sin polímero, como es el caso de la ovejas (2 h; Rahal y cols., 2006) o terneros (1,28 h; De Lucas y cols., 2008). Sin embargo, valores más prolongados de  $T_{m\acute{a}x}$  se han descrito en alpacas (6 h; Gandolf y cols., 2005).

La  $C_{m\acute{a}x}$ , obtenida para enrofloxacino en formulación SC2 en cabra, ha sido de 2037,22  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 59), 1,4 veces inferior a la obtenida cuando se administró el enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC1 (2935,74  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 42); si bien sigue siendo algo superior a la  $C_{m\acute{a}x}$  alcanzada tras la administración subcutánea sin polímero (1908,41  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 25). Hay que tener en cuenta que la administración del

enrofloxacino con las formulaciones retardadas se hizo a una dosis de 15 mg/kg, 3 veces superior a cuando se administró sin polímero.

Valores de  $C_{m\acute{a}x}$  similares se han descrito en cabras y ganado vacuno, tras la administración de una dosis de 7,5 mg/kg de peso de enrofloxacino vía subcutánea y sin polímero. Concretamente se obtuvieron valores de 2900 y 2910  $\mu\text{g/L}$  (Ramesh y cols., 2002; Stegemann y cols., 1997).

Otros valores de  $C_{m\acute{a}x}$ , en este caso muy elevados, se han descrito en alpacas, cuando se administró el enrofloxacino a una dosis de 5 mg/kg y sin polímero. Este valor fue de 4160  $\mu\text{g/L}$  (Gandolf y cols., 2005).

Si comparamos nuestro resultado de la concentración inicial alcanzada por vía intravenosa al administrar una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino, vemos que alcanza un valor 5,8 veces superior a la  $C_{m\acute{a}x}$  aquí obtenida.

#### **5.4.2.3.- CONSTANTE DE ABSORCIÓN Y SEMIVIDA DE ABSORCIÓN.**

Tras la administración de enrofloxacino en formulación SC2 a cabras, se ha obtenido una constante de absorción aparente ( $k_a$ ) de  $0,33\text{ h}^{-1}$  (Tabla 59) y una vida media asociada a la misma ( $t_{1/2ka}$ ) de 2,21 h (Tabla 59).

Al comparar esta  $t_{1/2ka}$  con la obtenida tras la administración subcutánea del enrofloxacino en formulación SC1 (2,29 h; Tabla 42) podemos ver que no existen prácticamente diferencias. Si existe diferencia al compararla con la  $t_{1/2ka}$  cuando se administra el enrofloxacino vía subcutánea sin el polímero P407 (1,52 h; Tabla 25), resultando en el caso que nos ocupa, una absorción aproximadamente 1,5 veces más lenta. Ello se debe a que esta formulación retarda la liberación del fármaco.

También, podemos comparar  $t_{1/2ka}$  con el  $t_{1/2\lambda_z}$  intravenoso (10,44 h; Tabla 6), observando como este último es casi 4,7 veces mayor, lo que nos podría indicar que la fase de absorción no condiciona la eliminación del enrofloxacino en la cabra.

Para el enrofloxacino, existen descritos valores de  $t_{1/2ka}$  en conejos (0,3 h; Broome y cols., 1991) y ovejas (0,58 h; Rahal y cols., 2006), cuando se administró una dosis de 5 mg/kg sin polímero, muy inferiores a los obtenidos en nuestro estudio.

En cabras, y para el difloxacino tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg, se han registrado valores de  $t_{1/2ka}$  prácticamente iguales a los obtenidos en nuestro estudio al administrar enrofloxacino en formulación SC2 (2,19 h; Marín y cols., 2007c).

#### **5.4.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD.**

El AUC, obtenido tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC2, alcanza un valor de 34339,40  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 62).

La biodisponibilidad obtenida ha sido 52,83% (Tabla 62). Como podemos observar, la asociación al polímero P407 de la caboximetilcelulosa hace que la biodisponibilidad sea algo inferior con respecto a la obtenida cuando se administró el enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC1 (55,81%; Tabla 45).

Si comparamos el valor de biodisponibilidad descrito tras la administración del enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC2 (52,83%) con el obtenido tras la administración del enrofloxacino vía subcutánea sin polímero (71%; Tabla 28), podemos destacar una reducción del 18,17%. Respecto a la vía intravenosa, la biodisponibilidad se reduce un 47,17%.

Un valor similar de biodisponibilidad del enrofloxacino se ha descrito en ovejas al administrar el enrofloxacino vía subcutánea a una dosis de 5 mg/kg sin polímero, 50,62% (Rahal y cols., 2006).

### **5.4.3.- ESTUDIO DE CIPROFLOXACINO, METABOLITO ACTIVO DE ENROFLOXACINO, TRAS LA ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2%.**

#### **5.4.3.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.**

La evolución de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacinó tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacinó en formulación SC2, según el AIC, se ajustan a un modelo monocompartimental abierto con absorción de primer orden (correspondiente a la formación de metabolito).

Como se vió en el estudio farmacocinético del ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacinó sin polímero P407, existe sólo un estudio farmacocinético de ciprofloxacino en ovejas, en el cual las concentraciones plasmáticas se ajustan a un modelo monocompartimental abierto con absorción de primer orden (correspondiente a la formación de metabolito) (Rahal y cols., 2006).

Otros estudios realizados en vacas, terneros y alpacas, han realizado estudios no compartimentales de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de enrofloxacinó sin polímero (De Lucas y cols., 2008; Mckellar y cols., 1999; Gandolf y cols., 2005).

El modelo monocompartimental abierto del ciprofloxacino tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacinó en formulación SC2 por vía subcutánea, viene definido por la ecuación 3:

$$C = C_z \cdot e^{-\lambda_z t} - C_f \cdot e^{-k_f t} \quad (3)$$

La ecuación 3 adquiere valores distintos en cada animal, que se muestran en la Tabla 67. Igualmente, los estadísticos de desviación de dichos valores, así como los valores de los parámetros que resultan de las concentraciones medias, se muestran en la Tabla 68. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación, junto con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 69), revelan que los parámetros son homogéneos y no existen diferencias significativas para un mismo parámetro.

Por tanto, la ecuación que describe la evolución de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en formulación SC2, obtenida con los parámetros medios, adopta el siguiente valor:

$$C = 324,1623 \cdot e^{-0,0948 t} - 324,1623 \cdot e^{-0,5199 t} \quad \mu\text{g/L} \quad (14)$$

Al igual que ocurría con la vía intravenosa, subcutánea y subcutánea con polímero P407 al 25%, los tiempos de latencia detectados en estos animales son despreciables y por ello los coeficientes ( $C_z$  y  $C_f$ ) resultantes son de igual magnitud.

En los Gráficos 54 y 55, se representan las concentraciones medias experimentales de manera directa y semilogarítmica, respectivamente. La representación directa de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 54), pone de manifiesto que los niveles de ciprofloxacino ascienden en una primera fase, correspondiente a la de formación del metabolito, durante las primeras 6 horas posteriores a la administración del enrofloxacino, igual que ocurría para el ciprofloxacino tras la administración del enrofloxacino en formulación SC1 vía subcutánea, para posteriormente ir disminuyendo de forma paulatina, en lo que podría considerarse una monoexponencial que se mantiene hasta el final del proceso (hasta las 32 horas tras la administración del enrofloxacino, igual que con enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%). Si comparamos el Gráfico 54 con la representación gráfica de las concentraciones plasmáticas del cirprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacino sin polímero (Gráfico 29), podemos observar que la formación del metabolito se prolonga durante 2 horas más, ya que la fase de formación de metabolito acababa a las 4 horas de la administración del enrofloxacino, y la fase de eliminación se prolonga hasta 10 horas más.

#### **5.4.3.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.**

A continuación se van a comentar los parámetros farmacocinéticos más representativos obtenidos por análisis compartimental y no compartimental del ciprofloxacino tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC2 a cabras. Estos parámetros farmacocinéticos se

muestran en las Tablas 67 y 68, los cuales van referidos a cada animal y a sus concentraciones medias.

Al igual que comentábamos en el estudio farmacocinético del ciprofloxacino tras la administración de enrofloxacino por otras vías y en formulación SC1, los parámetros farmacocinéticos del ciprofloxacino, al ser un producto del metabolismo del enrofloxacino, presentan gran variabilidad inter e intraespecífica.

También es importante señalar, la ausencia en la literatura de estudios farmacocinéticos, en cabras u en otras especies animales, de ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacino en alguna fórmula de liberación retardada como es el polímero P407 o el polímero P407 + carboximetilcelulosa. Sólo existe un estudio realizado con polímero P407 al 30% para moxifloxacino y en una especie también distinta como es el conejo (Cárceles y cols., 2006), haciéndose el estudio de esta fluorquinolona y no de un producto de su metabolismo como es el caso que nos ocupa.

#### **5.4.3.2.1.- TIEMPO DE VIDA MEDIA Y MRT.**

En el caso del ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC2, el tiempo de vida media o semivida ( $t_{1/2\lambda z}$ ), considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982), ha sido 8,25 h (Tabla 68).

El valor obtenido resulta ser casi 3,3 veces superior al obtenido tras la administración intravenosa (2,49 h; Tabla 17). Igualmente, si la comparamos con las vías subcutáneas sin y con la formulación SC1, supera en 1,4 veces la vida media del enrofloxacino administrado sin polímero (6,11 h; Tabla 51) y en 4,1 veces la vida media del enrofloxacino administrado con formulación SC1 (2,01 h; Tabla 34). Esto puede ser indicativo de que el proceso de formación del metabolito, al igual que cuando administrábamos el enrofloxacino en formulación SC1 vía subcutánea y al contrario que en la administración subcutánea sin polímero, puede convertirse en un factor limitante de la eliminación, si bien hay que tener en cuenta que la dosis administrada de enrofloxacino cuando se utilizó la formulación SC1 o la SC2 fue el triple de la utilizada sin él.

Rao y cols. (2002a), dan un valor de  $t_{1/2\lambda z}$  para ciprofloxacino, cuando se administraba enrofloxacino en cabras vía intravenosa a una dosis de 2,5 mg/kg, de 0,92 h. El  $t_{1/2\lambda z}$  del ciprofloxacino obtenido en nuestro estudio al administrar el enrofloxacino en formulación SC2, es aproximadamente 9 veces superior, si bien la dosis administrada en nuestro estudio fue de 15 mg/kg.

Algo similar a lo comentado anteriormente ocurre al comparar el  $t_{1/2\lambda z}$  encontrado por Rao y cols. (2001), al administrar una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino por vía intramuscular a cabras (1,38 h). En nuestro caso, obtenemos una  $t_{1/2\lambda z}$  también superior. Igualmente, el  $t_{1/2\lambda z}$  descrito en nuestro estudio supera al valor encontrado en ovejas tras la administración de 5 mg/kg de enrofloxacino sin polímero (4,11 h; Rahal y cols., 2006).

La formulación SC2 aumenta la  $t_{1/2\lambda z}$  del metabolito ciprofloxacino respecto a la administración del enrofloxacino sin polímero tanto por vía intravenosa como subcutánea. Aún así, la  $t_{1/2\lambda z}$  descrita en nuestro estudio (8,25 h; Tabla 68) sigue siendo inferior a la obtenida para el ciprofloxacino en vacas tras la administración de una dosis de 8 mg/kg de enrofloxacino sin polímero P407: 9,67h (Terhune y cols., 2005).

El  $t_{1/2\lambda z}$  del moxifloxacino en conejos a los que se les administró en solución de polímero P407 al 30% vía subcutánea, a dosis de 30 mg/kg, es 11,09 h (Cárceles y cols., 2006), valor muy superior al que describimos aquí en cabras.

Por otro lado, el MRT alcanza un valor de 15,34 h (Tabla 68), un valor 4,1 veces mayor que el MRT intravenoso (3,73 h; Tabla 17). Igualmente, es 2,3 veces superior al obtenido vía subcutánea sin polímero (6,69 h; Tabla 34) y 1,2 veces al obtenido vía subcutánea con formulación SC1 (13,09 h; Tabla 51).

Si comparamos el valor obtenido de MRT cuando se administra el enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC2, con el obtenido en otros animales al administrarlo solo, podemos ver que es muy superior, ya que los valores de MRT oscilan entre 5,27 h en ovejas (Rahal y cols, 2006) y 10,62 h en terneros (Mckellar y cols., 1999).

Mayor es la diferencia si comparamos nuestro resultado de MRT con el obtenido para el ciprofloxacino en cabras tras la administración intravenosa de enrofloxacino sin polímero de una dosis de 2,5 mg/kg, existiendo una diferencia de 13,41 h (1,93 h; Rao y cols., 2002a).



En cabras, en las que se administró una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacinó vía intramuscular (Rao y cols., 2001), el MRT (2,73 h) resultó 5,6 veces inferior.

#### **5.4.3.2.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.**

El  $T_{m\acute{a}x}$ , que en nuestro caso depende de la formación del metabolito, ha sido de 4,69 h (Tabla 68). Es algo inferior al  $T_{m\acute{a}x}$  subcutáneo del enrofloxacinó con formulación SC1 (5,09 h; Tabla 51), aunque no muestran diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, si lo comparamos con el  $T_{m\acute{a}x}$  del enrofloxacinó vía subcutánea sin el polímero P407, la diferencia es considerable ( $p < 0,05$ ), siendo el valor de éste último 1,6 veces inferior (2,93 h; Tabla 34). Aún mayor es la diferencia ( $p < 0,05$ ) al comparar con el  $T_{m\acute{a}x}$  descrito tras administrar el enrofloxacinó vía intravenosa, de aproximadamente 4 horas (0,64 h; Tabla 17). Así, el administrar el enrofloxacinó junto con formulación SC1 o SC2 retrasa  $T_{m\acute{a}x}$  de ciprofloxacino en plasma de cabra.

Valores de  $T_{m\acute{a}x}$  para el ciprofloxacino menos prolongados se han obtenido en otros animales en los que se administró enrofloxacinó vía subcutánea sin polímero, como es el caso de la ovejas (1,33 h; Rahal y cols., 2006). Sin embargo, valores más prolongados de  $T_{m\acute{a}x}$  se han descrito en vacas al administrar una dosis de enrofloxacinó de 12,5 mg/kg (6,4 h; Davis y cols., 2007).

Igualmente un valor inferior de  $T_{m\acute{a}x}$  se ha descrito para el ciprofloxacino en cabras, cuando se administró enrofloxacinó a una dosis de 2,5 mg/kg vía intramuscular, de 1,2 h (Rao y cols., 2001).

Un valor prácticamente igual de  $T_{m\acute{a}x}$ , (4,92 h) para moxifloxacino fue descrito por Cárceles y cols. (2006), cuando se administró a una dosis de 30 mg/kg en solución del polímero P407 al 30% en conejos vía subcutánea.

En cuanto a la  $C_{m\acute{a}x}$ , el valor obtenido para el ciprofloxacino en cabra tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacinó en formulación SC2, ha sido de 208,09  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 68).

Esta  $C_{m\acute{a}x}$  es aproximadamente 2,2 veces inferior ( $p < 0,05$ ) a la obtenida cuando se administró el enrofloxacinó vía intravenosa (452,08  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 17). Igualmente es 1,2 veces inferior ( $p < 0,05$ ) a la descrita para ciprofloxacino cuando se administró vía

subcutánea sin polímero (241,39; Tabla 34), y 1,6 veces ( $p < 0,05$ ) como subcutánea en formulación SC1 (329,65  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 51).

Hay que recordar que tanto la administración del enrofloxacino en formulación SC1 como en formulación SC2 se hizo a una dosis de 15 mg/kg, en lugar de 5 mg/kg como ocurre en el caso del enrofloxacino sin polímero.

Valores parecidos de  $C_{\text{máx}}$  para el ciprofloxacino fueron obtenidos en cabras (200  $\mu\text{g/L}$ ; Rao y cols., 2002a) y perros (205  $\mu\text{g/L}$ ; Küng y cols., 1993), cuando se administró enrofloxacino, sin polímero, vía intravenosa a dosis de 2,3 y 5 mg/kg, respectivamente.

Comparando el valor obtenido en nuestro estudio con el que describe Rao y cols. (2001) en cabras (240  $\mu\text{g/L}$ ), tras la administración de una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino por vía intramuscular y sin polímero, podemos decir que nuestro resultado es algo inferior.

Nuestro valor de  $C_{\text{máx}}$  para el ciprofloxacino sigue siendo muy superior al alcanzado en alpacas (Gandolf y cols., 2005) y ovejas (Rahal y cols., 2006), cuando se administró una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino vía subcutánea: 60 y 50  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente.

#### **5.4.3.2.3.- CONSTANTE DE FORMACIÓN Y SEMIVIDA DE FORMACIÓN.**

Tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC2 vía subcutánea a cabras, se ha obtenido un valor de la constante de formación aparente ( $k_f$ ) para el ciprofloxacino de  $0,52 \text{ h}^{-1}$  y de la vida media asociada a la misma ( $t_{1/2kf}$ ) de 1,68 h (Tabla 68).

Al comparar  $t_{1/2kf}$  del metabolito ciprofloxacino con el obtenido por vía intravenosa (0,15 h; Tabla 17), podemos observar que la formación del metabolito sigue siendo mucho más lenta cuando se administra el enrofloxacino en formulación SC2. Al contrario ocurre cuando lo comparamos con los valores de  $t_{1/2kf}$  obtenidos para el ciprofloxacino tras la administración de enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC1 (Tabla 51), que fue de 2,58 h ( $p < 0,05$ ). Sin embargo no muestra diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) a cuando se administra sin polímero ( $t_{1/2kf} = 1,73 \text{ h}$ ; Tabla 34).

Por tanto, al administrar el enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC2, la formación del metabolito ciprofloxacino es más rápida que cuando se administra vía subcutánea en formulación SC1.

El  $t_{1/2kf}$  del ciprofloxacino encontrado en nuestro estudio supera en 1,21 h el valor obtenido en ovejas, cuando se administró el enrofloxacino sin polímero vía subcutánea (Rahal y cols., 2006). Igualmente supera en 1,12 h el valor descrito en cabras para el ciprofloxacino, cuando se administró una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino sin polímero vía intramuscular (Rao y cols., 2001).

#### **5.4.3.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y RATIO DE METABOLITO.**

El AUC obtenido del ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC2, alcanza un valor de 3799,51  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 68). Es muy superior ( $p < 0,05$ ) al hallado cuando administramos el enrofloxacino vía intravenosa (1958,07  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tabla 17) y subcutánea (1850,81  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tabla 34) a un dosis de 5 mg/kg, casi 1,9 y 2,1 veces respectivamente. Sin embargo, es 1,5 veces inferior ( $p < 0,05$ ) al descrito para ciprofloxacino cuando se administró el enrofloxacino vía subcutánea en en formulación SC1 a la dosis de 15 mg/kg (5520,96  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tabla 51).

Respecto al moxifloxacino, cuando se administró junto con polímero P407 al 30% a conejos a una dosis de 30 mg/kg, se obtuvo un valor de AUC de 14520  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Cárceles y cols., 2006), valor muy superior al descrito para el ciprofloxacino como metabolito del enrofloxacino en cabras.

La ratio de metabolito (MR), expresada en porcentaje, mediante la relación del AUC del ciprofloxacino y del enrofloxacino obtenidos tras la administración subcutánea de enrofloxacino en formulación SC2 alcanza un valor medio del 11,05% de los niveles plasmáticos de enrofloxacino (Tabla 70).

Esta ratio, aunque resulta superior a la intravenosa (9,16%; Tabla 19) e inferior a la subcutánea (12,12%; Tabla 36), no muestra diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) a la hallada cuando se relacionaron los AUC de ciprofloxacino y enrofloxacino obtenidos tras la administración enrofloxacino sin polímero. Igual ocurre ( $p > 0,05$ ), aunque es inferior a la descrita cuando se relacionaron los AUC de ciprofloxacino y enrofloxacino

obtenidos tras la administración subcutánea de enrofloxacino en formulación SC1 (16,75%; Tabla 53).

El valor descrito de MR en nuestro estudio sigue siendo muy inferior al hallado en otras especies cuando se administró el enrofloxacino vía subcutánea. Recordemos que se obtenían unos valores de MR entre el 30% en vacas (De Lucas y cols., 2008) y un 52,1% en alpacas (Gandolf y cols., 2005). Tampoco supera el valor de MR del 36% descrito en cabras para el ciprofloxacino tras administrar una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacino vía intramuscular (Rao y cols., 2001). Por otra parte, el valor de MR de nuestro estudio supera al 4% obtenido en ovejas cuando se administró el enrofloxacino vía subcutánea (Rahal y cols., 2006).

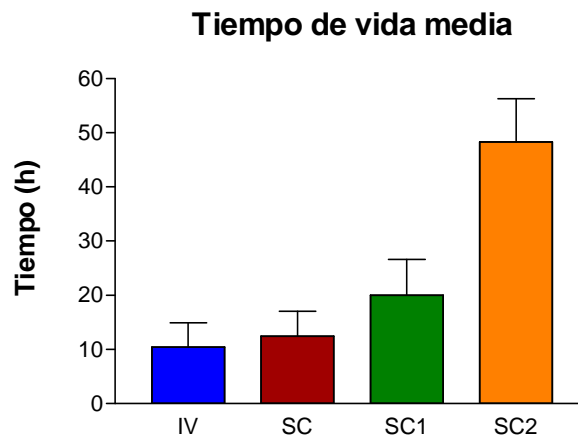
## 5.5.- COMPARACIÓN ENTRE ADMINISTRACIONES (ENROFLOXACINO).

La disposición plasmática de enrofloxacin para todas las vías estudiadas, intravenosa y subcutáneas (en solución acuosa, en solución del polímero P407 al 25% o formulación SC1 y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% o formulación SC2) se ajusta mejor a un modelo farmacocinético bicompartimental abierto, existiendo en las vías extravasculares una constante de absorción de primer orden.

Las representaciones gráficas de las concentraciones experimentales (Gráfico 65 y 66), sugieren diferencias en el comportamiento del antibiótico al ser administrado por cualquiera de estas vías y en función de si es administrado en formulación SC1 o SC2, sobre todo un retraso en la absorción y un aumento en el tiempo de permanencia en el organismo cuando se administra con alguna formulación de liberación retardada. Sin embargo, para poder realizar esta afirmación es necesario comparar los parámetros farmacocinéticos obtenidos en cada caso, entre ellos.

### 5.5.1.- TIEMPO DE VIDA MEDIA ( $t_{1/2\lambda z}$ ).

En primer lugar, como se puede observar en la Tabla 72, existen diferencias significativas en los valores de semivida ( $p < 0,05$ ) entre la vía intravenosa y la vía subcutánea cuando se administra el enrofloxacin en formulación SC1 o SC2, pero no entre los valores de semivida de la vía intravenosa y la subcutánea al administrar el enrofloxacin sin polímero. Resulta interesante, que el  $t_{1/2\lambda z}$  es más largo en las vías subcutáneas (Tabla 71) y, dentro de ellas, cuando se administra el enrofloxacin en formulación SC2. El valor de  $t_{1/2\lambda z}$  resulta superior ( $p < 0,05$ ) tras la administración subcutánea del enrofloxacin en la formulación SC2 respecto a la administración en formulación SC1 (48,31 h vs 19,97 h), demostrándose por tanto que la formulación SC2 resulta ser la de elección a fin de obtener concentraciones plasmáticas durante un mayor tiempo en la cabra, ya que la permanencia del enrofloxacin es mayor cuando se administra por vía subcutánea en formulación SC2, como se observa en la siguiente figura:



**Figura 4.-** *Tiempos de vida media ( $t_{1/2\lambda z}$ ) obtenidos en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.*

Las diferencias encontradas entre las vidas medias de la vía intravenosa y las extravasculares son debidas a la influencia de la fase de absorción en estas últimas.

En el estudio realizado por Cárceles y cols. (2006), con moxifloxacino en conejos también se obtuvieron diferencias significativas al comparar el tiempo de vida media tras la administración intravenosa del fármaco con el  $t_{1/2\lambda z}$  del fármaco administrado vía subcutánea junto con polímero P407 al 30%.

La comparación del  $t_{1/2\lambda z}$  de las tres administraciones subcutáneas (Figura 4), pone de manifiesto la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre la formulación convencional de enrofloxacino y la formulación SC2. No ocurre lo mismo ( $p > 0,05$ ) entre la  $t_{1/2\lambda z}$  de la formulación convencional de enrofloxacino y la formulación SC1 (Tabla 72).

En un estudio realizado con moxifloxacino en conejos, en el que se utilizó el polímero P407, se describieron que existían diferencias significativas en cuanto a la semivida del fármaco entre la administración subcutánea del moxifloxacino sin polímero y la administración del moxifloxacino vía subcutánea junto con polímero P407 al 30% (Cárceles y cols., 2006). En nuestro estudio no se obtienen diferencias significativas al comparar ambas administraciones.

Como se puede observar en la Tabla 71, la semivida de enrofloxacino es muy superior cuando se administra junto con alguna formulación de liberación retardada comentada, si bien es la fórmula SC2 con la que se obtiene una mayor semivida del fármaco, o lo que es lo mismo, el mayor tiempo de permanencia del fármaco en la cabra se obtendrá cuando se administra el fármaco con esa formulación de liberación retardada.

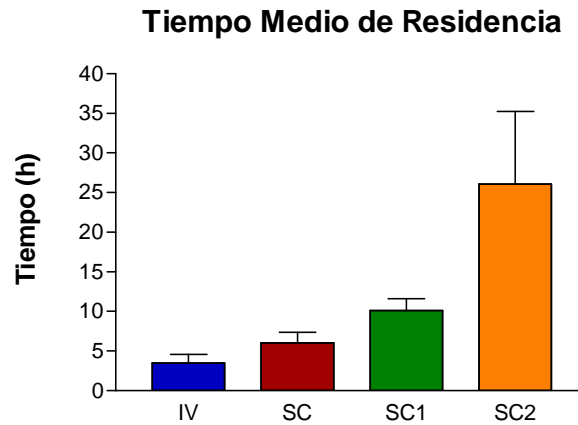
### **5.5.2.- TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT).**

El MRT se comporta de forma similar a las semividas descritas anteriormente. Al comparar el MRT intravenoso con el subcutáneo, se puede observar que existen diferencias significativas entre ellos ( $p < 0,05$ ), al contrario con lo que sucede con  $t_{1/2\lambda z}$ . También presenta diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las vías intravenosa y subcutánea tras la administración del enrofloxacino en formulación SC1 y en formulación SC2.

El MRT resulta 1,7 y 4,3 veces superior ( $p < 0,05$ ) tras la administración subcutánea del enrofloxacino en en formulación SC1 y SC2, que tras la administración subcutánea sin polímero, respectivamente. Esto indica claramente que la permanencia de enrofloxacino es mayor tras la administración subcutánea en alguna de las dos formulaciones de liberación retardada y, por tanto, es mejor forma de administración a fin de obtener concentraciones plasmáticas durante un mayor tiempo.

Por tanto, se confirma que las concentraciones plasmáticas descienden más lentamente tras las administraciones subcutáneas que tras la administración intravenosa, y dentro de las subcutáneas en las que se administra el enrofloxacino en formulación SC2. Pudiendo ser por tanto, esta vía y formulación las de elección a fin de obtener concentraciones plasmáticas durante un mayor tiempo.

A continuación (Figura 5), se presentan de forma gráfica los valores de MRT de la vía intravenosa y subcutánea con y sin polímero:



**Figura 5.-** Tiempo medio de residencia (MRT) obtenido en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

En ovejas (Rahal y cols., 2006), alpacas (Gandolf y cols., 2005) y vacas lactantes (Kaartinen y cols., 1995) también se ha registrado un mayor valor de MRT para la vía subcutánea respecto a la vía intravenosa, pudiendo resultar, como en la cabra, la vía de elección, con el fin de obtener una mayor permanencia de enrofloxacino en estas especies animales. En el conejo (Broome y cols., 1991), se puede observar justo lo contrario, describiéndose un valor de MRT superior cuando se administró el enrofloxacino vía intravenosa, aunque la diferencia es mínima. Cárceles y cols. (2006), en conejos a los que se administró moxifloxacino vía subcutánea con y sin polímero P407 al 30% también encuentran diferencias significativas entre los valores de MRT de ambas formulaciones, a favor de la formulación retardada.

### 5.5.3.- CONSTANTE DE ABSORCIÓN (Ka).

Cuando comparamos los resultados obtenidos de la absorción subcutánea de enrofloxacino sin polímero con los obtenidos con las formulaciones retardadas (Tabla 72), se encuentran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores medios de la constante de absorción de las diferentes vías y formas de administración del enrofloxacino en cabras se describen en la Tabla 71. Como podemos observar, la velocidad de absorción del enrofloxacino en cabra será menor cuando se administra en



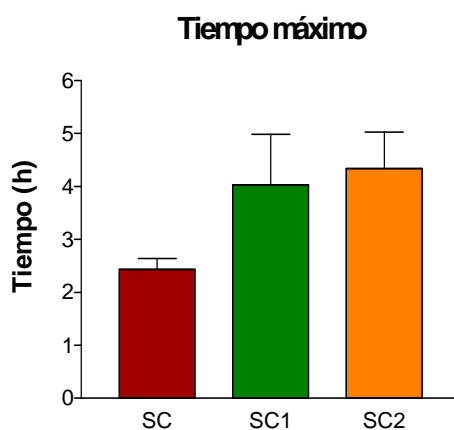
formulación SC1 o SC2. Al contrario ocurría en el estudio realizado por Cárceles y cols. (2006), con moxifloxacino en conejos, en el cual la velocidad de absorción era mayor cuando se administraba junto con el polímero P407 al 30%.

#### 5.5.4.- TIEMPO MÁXIMO ( $T_{m\acute{a}x}$ ) Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA ( $C_{m\acute{a}x}$ ).

En la Tabla 71 se muestran los valores de  $T_{m\acute{a}x}$  y  $C_{m\acute{a}x}$  de las tres formulaciones subcutáneas. Se puede apreciar (Tabla 72) que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los valores de estos parámetros obtenidos con la formulación subcutánea convencional y los de las formulaciones retardadas. Como se puede observar, se obtiene una mayor  $C_{m\acute{a}x}$  y un menor  $T_{m\acute{a}x}$  cuando se administra el enrofloxacino en formulación convencional.

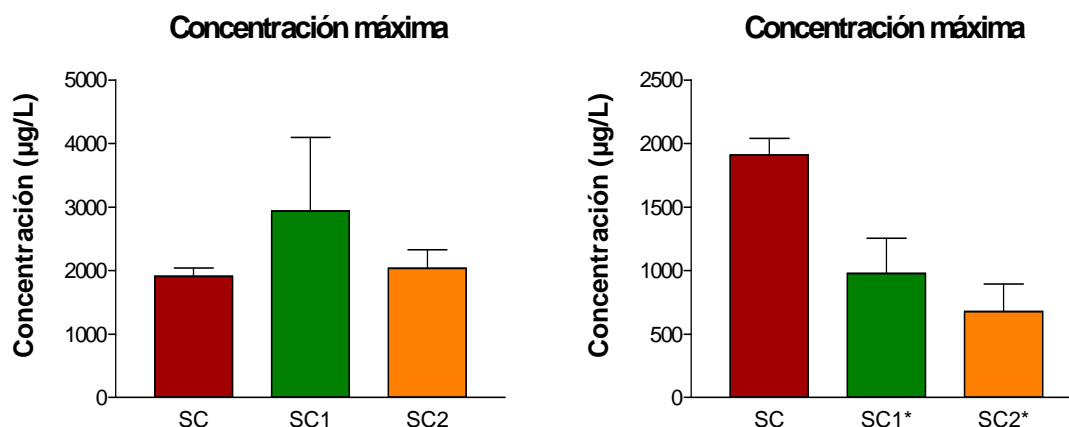
El mayor valor de  $T_{m\acute{a}x}$  cuando se administra en las dos fórmulas de liberación retardada, se debe a que la absorción del enrofloxacino es más prolongada, como se comentó al hablar de la  $K_a$ . Las mismas conclusiones se pueden obtener en el estudio realizado con moxifloxacino en conejos cuando se administró junto con el polímero P407 al 30% (Cárceles y cols., 2006).

En la figura 6, se observa de forma gráfica las diferencias existentes en el  $T_{m\acute{a}x}$  para el enrofloxacino en cabras, entre las las tres vías de administración subcutáneas:



**Figura 6.-** Tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ) obtenido en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

En la siguiente figura (7), se observa de forma gráfica las diferencias existentes en las tres vías de administración subcutáneas, sin polímero P407, con polímero P407 y con polímero P407 + carboximetilcelulosa, con respecto a la  $C_{m\acute{a}x}$  de enrofloxacino en plasma:



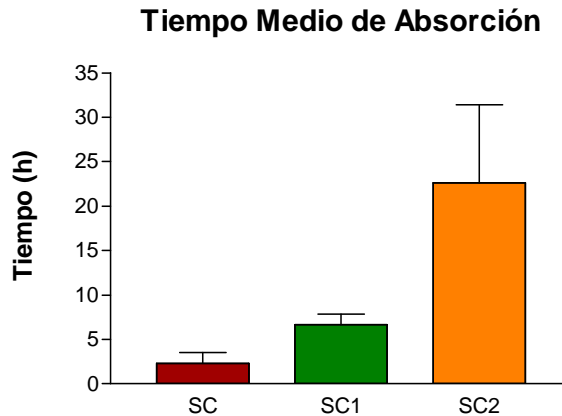
**Figura 7.-** Concentraciones plasmáticas máximas ( $C_{m\acute{a}x}$ ) obtenidas en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg. A la derecha los valores de  $C_{m\acute{a}x}$  de enrofloxacino tras su administración vía SC1 y SC2, están corregidos a una dosis de 5 mg/kg\*.

### 5.5.5.- TIEMPO MEDIO DE ABSORCIÓN (MAT).

En cuanto al MAT, los valores medios obtenidos tras las administraciones subcutáneas (Tabla 71) son de 2,30 h para la formulación de enrofloxacino sin polímero, de 6,66 h cuando se administra en formulación SC1 y de 22,62 h tras la administración en formulación SC2. Estos valores resultan estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ), resultando inferior, en concordancia con lo expuesto anteriormente, el MAT obtenido en la formulación sin polímero. Por ello se puede asegurar que la absorción de enrofloxacino resulta más lenta tras la administración subcutánea en alguna de las formulaciones de liberación retardada, a la vez que presenta una mayor permanencia en el organismo, siendo mucho mayor cuando se administra en formulación SC2. En el estudio realizado con P407 al 30% en conejos, por Cárceles y cols. (2006), hay que destacar que ocurre al contrario. Es decir, el tiempo de permanencia en el del

moxifloxacino cuando se administra con polímero P407 vía subcutánea es menor que cuando se administra sin el mismo.

En la figura 8, se observa de forma gráfica las diferencias existentes en las tres formulaciones subcutáneas, sin polímero P407, con polímero P407 y con polímero P407 + carboximetilcelulosa, con respecto al MAT:



**Figura 8.-** Tiempo medio de absorción (MAT) obtenido en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

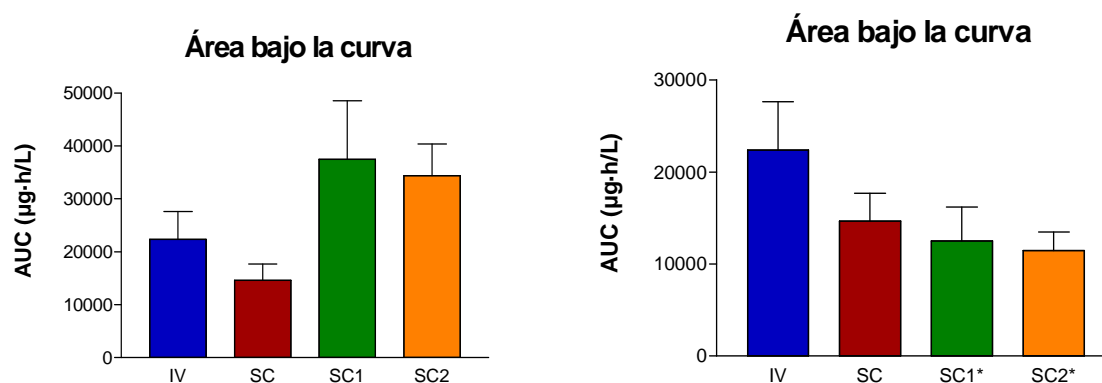
### 5.5.6.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC).

La prueba *t* de Student pone de manifiesto que el valor de AUC obtenido para enrofloxacino en cabra tras la vía intravenosa (14645,76 µg·h/L; 65,5%) resulta significativamente ( $p < 0,05$ ); Tabla 72) mayor que el obtenido tras la administración subcutánea. Si bien, los valores de AUC obtenidos con las dos formulaciones retardadas son mayores que el AUC<sub>iv</sub> (debemos tener en cuenta que eso se debe a utilizar una dosis 3 veces mayor), por lo que al corregir esos AUC<sub>e.v.</sub> a una dosis de 5mg/kg (Tabla 71) resultan ser significativamente menores ( $p < 0,05$ ) al AUC<sub>iv</sub>.

Al comparar los valores de AUC (Figura 9, izquierda), se puede apreciar que el AUC obtenido tras la administración subcutánea del enrofloxacino sin polímero es significativamente superior ( $p < 0,05$ ) (Tabla 72) al AUC obtenido al administrarlo en formulaciones retardadas. Cárceles y cols. (2006), en conejos a los que se administró moxifloxacino vía subcutánea con y sin polímero P407 al 30% también reportan el

mismo hecho. Sin embargo, no existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los AUC obtenidos con las dos formulaciones retardadas.

En la figura 9, se observa de forma gráfica las diferencias existentes en el AUC para el enrofloxacino en cabras, entre la vía intravenosa y subcutánea con y sin polímero:

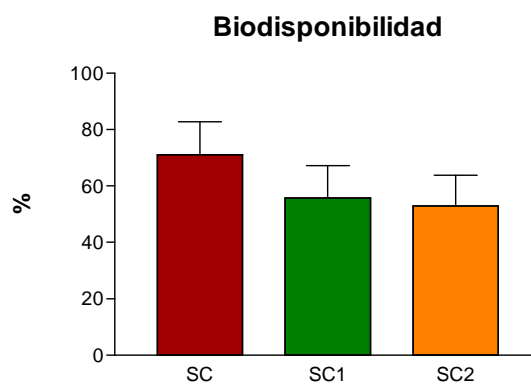


**Figura 9.-** Área bajo la curva de niveles plasmáticos (AUC) obtenidos en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg. En la derecha, los valores de  $AUC_{0-\infty}$  de enrofloxacino tras su administración vía SC1 y SC2, están corregidos a una dosis de 5 mg/kg\*.

### 5.5.7. BIODISPONIBILIDAD (F).

Por otro lado, la F del enrofloxacino cuando se administra en alguna de las formulaciones de liberación retardada es inferior a la encontrada cuando se administra sólo (Tabla 71). La prueba *t* de Student pone de manifiesto que la F registrada tras la administración subcutánea del enrofloxacino con y sin polímero P407, no presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, sí existen diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) al comparar la administración subcutánea del enrofloxacino sin polímero con la administración subcutánea del mismo en en formulación SC2. Valores de F inferiores también se describieron al administrar en conejo vía subcutánea el moxifloxacino junto con polímero P407 al 30% (Cárceles y cols., 2006).

En la figura 10, se observa de forma gráfica las diferencias existentes en la biodisponibilidad de las tres formulaciones subcutáneas, sin polímero P407, con polímero P407 y con polímero P407 + carboximetilcelulosa:



**Figura 10.-** Biodisponibilidad obtenida en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

## **5.6.- COMPARACIÓN ENTRE ADMINISTRACIONES (CIPROFLOXACINO).**

La disposición plasmática del ciprofloxacino, como metabolito activo del enrofloxacino, tras su administración intravenosa y subcutánea, en las tres formulaciones (convencional, SC1 y SC2), de enrofloxacino se ajusta mejor a un modelo farmacocinético monocompartimental abierto, existiendo una constante de formación del metabolito de primer orden.

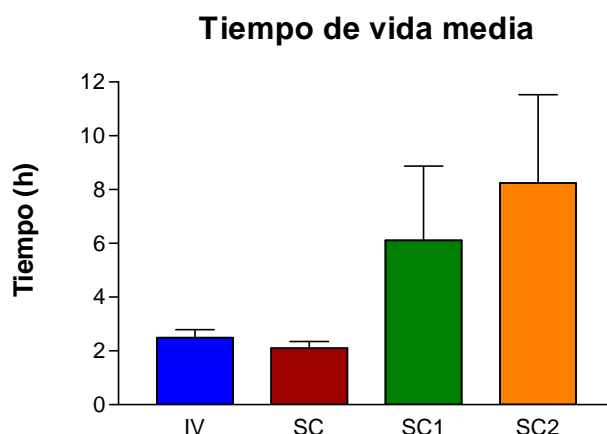
Las representaciones gráficas de las concentraciones experimentales de ciprofloxacino (Gráfico 69 y 70), sugieren diferencias en el comportamiento del antibiótico entre las vías y en función de la formulación administrada, sobre todo un retraso en la formación del metabolito ciprofloxacino y en el tiempo de permanencia en el organismo cuando se administra con alguna formulación de liberación retardada, si bien tiene una tendencia similar cuando se administra en las dos formulaciones de liberación retardada.. Sin embargo, para poder realizar esta afirmación es necesario comparar los parámetros farmacocinéticos obtenidos en cada caso, entre ellos, al igual que hacíamos para el enrofloxacino.

### **5.6.1.- TIEMPO DE VIDA MEDIA ( $t_{1/2\lambda z}$ ).**

Como se puede observar en la Tabla 74, existen diferencias significativas en los valores de semivida del ciprofloxacino ( $p < 0,05$ ) entre la vía intravenosa y la vía subcutánea cuando se administra el enrofloxacino en formulación SC1 o SC2, no siendo así cuando se comparan los valores de semivida de ciprofloxacino de la vía intravenosa y la subcutánea al administrar el enrofloxacino sin polímero. Podemos destacar, que se registra un  $t_{1/2\lambda z}$  más largo para la vía intravenosa que para la vía subcutánea sin polímero. No ocurre igual, con el  $t_{1/2\lambda z}$  de ciprofloxacino cuando se administra en alguna de las formulaciones de liberación retardada (SC1 o SC2), los cuales son superiores al de la vía intravenosa. De ellos, es mayor la semivida del ciprofloxacino cuando se administra el enrofloxacino en formulación SC2. Al comparar los valores de  $t_{1/2\lambda z}$  de las tres formulaciones administradas por vía subcutánea, se pone de manifiesto la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre todas ellas.

En la Tabla 73 se puede observar una  $t_{1/2\lambda_z}$  de ciprofloxacino muy superior cuando se administra la formulación SC2. Por tanto, la permanencia del ciprofloxacino es mayor con dicha formulación, como se observa en la figura 11.

Con el enrofloxacin (Tabla 71) ocurría igual, el  $t_{1/2\lambda_z}$  era muy superior cuando se administraba vía subcutánea en formulación SC2, aunque el  $t_{1/2\lambda_z}$  de este es muy superior al de ciprofloxacino en plasma.



**Figura 11.-** Tiempos de vida media ( $t_{1/2\lambda_z}$ ) obtenidos para el ciprofloxacino en cabras, tras la administración de enrofloxacin vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

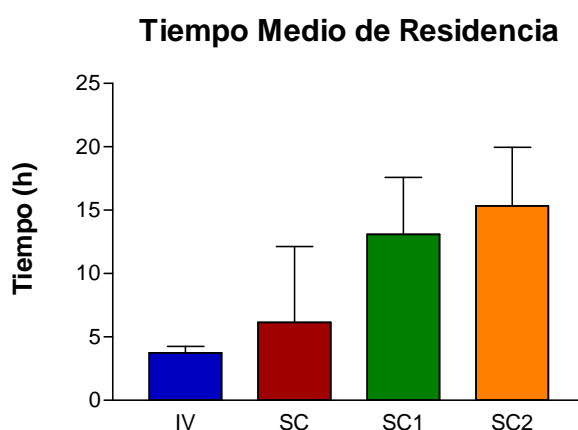
### 5.6.2. TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT).

El MRT del ciprofloxacino (Tablas 73), al igual que ocurría con el enrofloxacin, se comporta de forma similar a los  $t_{1/2\lambda_z}$  descritos anteriormente. Sin embargo, al comparar la vía intravenosa con la formulación convencional subcutánea se puede observar que existen diferencias significativas entre ambas vías ( $p < 0,05$ ), al contrario con lo que sucedía con  $t_{1/2\lambda_z}$ . También existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre el MRT intravenoso y los obtenidos con las dos formulaciones retardadas. Como se aprecia en la Tabla 73, el MRT del ciprofloxacino es muy superior cuando se administra el enrofloxacin vía subcutánea en formulación SC1 o SC2. Si comparamos los valores obtenidos en la administración subcutánea de las tres formulaciones, el MRT resulta 2,3 y 2,69 veces superior tras la administración subcutánea del enrofloxacin en

formulación SC1 y SC2, que tras la administración subcutánea sin polímero, respectivamente, obteniéndose diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Esto indica claramente que la permanencia de ciprofloxacino es mayor tras la administración subcutánea en alguna de las dos formulaciones de liberación retardada y, por tanto, es mejor forma de administración a fin de obtener concentraciones plasmáticas durante un mayor tiempo.

Si se compara el valor de MRT de ciprofloxacino (Tabla 73) con el obtenido para el enrofloxacin (Tabla 71) podemos destacar que el tiempo de permanencia de ciprofloxacino en plasma es superior al de enrofloxacin cuando se administra el enrofloxacin vía intravenosa y vía subcutánea en formulación SC1.

A continuación (Figura 12), se presentan los valores de MRT de ciprofloxacino en plasma de forma gráfica entre la vía intravenosa y subcutánea con y sin polímero:



**Figura 12.-** Tiempo medio de residencia (MRT) obtenido en la cabra para el ciprofloxacino tras la administración de enrofloxacin vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

### 5.6.3. SEMIVIDA DE FORMACIÓN ( $t_{1/2kf}$ ).

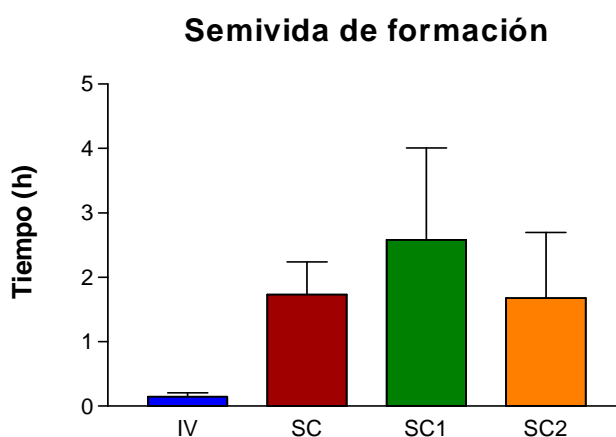
En cuanto al valor de  $t_{1/2kf}$  del metabolito ciprofloxacino, podemos destacar que existen diferencias significativas entre el valor obtenido para la vía intravenosa con los valores obtenidos para las tres formulaciones subcutáneas. Los valores medios de  $t_{1/2kf}$  del ciprofloxacino para las diferentes vías y formas de administración del enrofloxacin



en cabras se muestran en la Tabla 73. Como se puede observar en dicha tabla, la formación del metabolito es mucho más lenta cuando se administra el enrofloxacino vía subcutánea y vía subcutánea en formulación SC1 o SC2, que cuando se administra el enrofloxacino vía intravenosa.

Cuando comparamos la  $t_{1/2kf}$  del metabolito ciprofloxacino cuando administramos vía subcutánea el enrofloxacino sin polímero con las obtenidas tras la administración subcutánea de las formulaciones retardadas (Tabla 74), se encuentra que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ). Eso mismo ocurre entre las dos formulaciones retardadas, cuyas  $t_{1/2kf}$  no presentan diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Como podemos observar (Tabla 73), la velocidad de formación del ciprofloxacino en cabra será más prolongada cuando se administra el enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC1.

A continuación (Figura 13), se presentan los valores de  $t_{1/2kf}$  de forma gráfica:

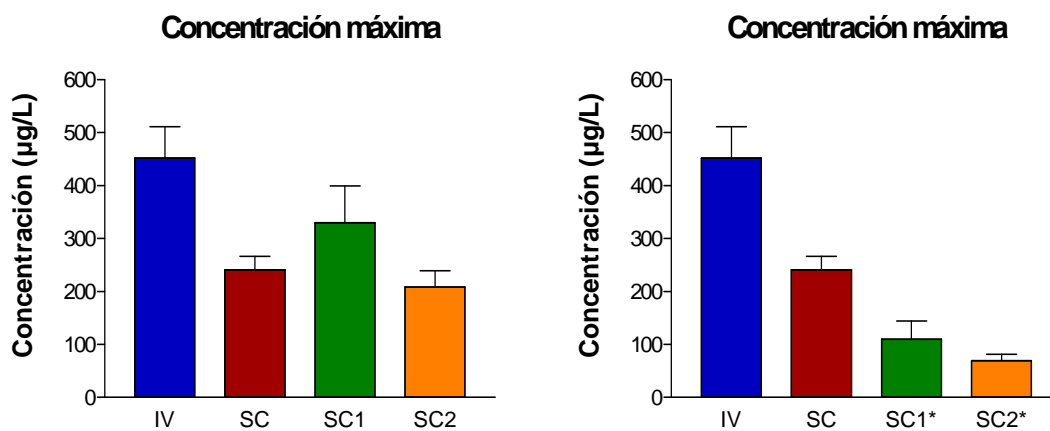


**Figura 13.-** Tiempos semivida de formación del metabolito ciprofloxacino ( $t_{1/2kf}$ ) en plasma obtenidos tras la administración en cabras de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

### 5.6.4. TIEMPO MÁXIMO ( $T_{m\acute{a}x}$ ) Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA ( $C_{m\acute{a}x}$ ).

En la Tablas 73 se observa los valores de  $T_{m\acute{a}x}$  y  $C_{m\acute{a}x}$  para el ciprofloxacino. En la Tabla 74 se puede apreciar que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la concentración plasmática máxima y en el tiempo que se tarda para alcanzar esa concentración plasmática máxima, entre la administración intravenosa del enrofloxacino y la administración subcutánea del enrofloxacino de las tres formulaciones. Como se puede observar en la vía intravenosa se obtiene un mayor valor de  $C_{m\acute{a}x}$  pero un menor  $T_{m\acute{a}x}$  para alcanzar la misma.

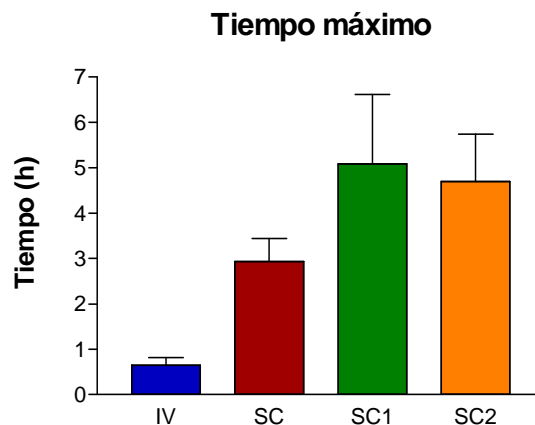
Al comparar la  $C_{m\acute{a}x}$  del ciprofloxacino referidos a las formulaciones subcutáneas (Tabla 73), se puede comprobar que es mayor la que se obtiene con la formulación SC1. Sin embargo, si corregimos los valores de las formulaciones retardadas a una dosis de 5 mg/kg, la  $C_{m\acute{a}x}$  de las formulaciones retardadas son significativamente menores ( $p < 0,05$ ). Además, entre ambas formulaciones retardadas, la formulación SC2, tiene una  $C_{m\acute{a}x}$  significativamente menor ( $p < 0,05$ ).



**Figura 14.-** Concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ) de ciprofloxacino obtenidos en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg. A la derecha se muestran los valores de  $C_{m\acute{a}x}$  de ciprofloxacino tras la administración de enrofloxacino vía SC1 y SC2, corregidos a una dosis de 5 mg/kg\*.

Por otra parte, podemos observar que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre el  $T_{m\acute{a}x}$  de ciprofloxacino, de la administración subcutánea de la formulación convencional del enrofloxacino y el de las formulaciones retardadas. Como se puede observar, en estas, es mayor. Un mayor valor de  $T_{m\acute{a}x}$  del ciprofloxacino en las dos fórmulas de liberación retardada, está de acuerdo con la  $t_{1/2kf}$ : la formación del ciprofloxacino es más lenta con estas formulaciones.

En la figura 15, se puede observar de forma gráfica las diferencias existentes entre las tres formulaciones subcutáneas con respecto al  $T_{m\acute{a}x}$ :



**Figura 15.-** Tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ) del ciprofloxacino obtenidos en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

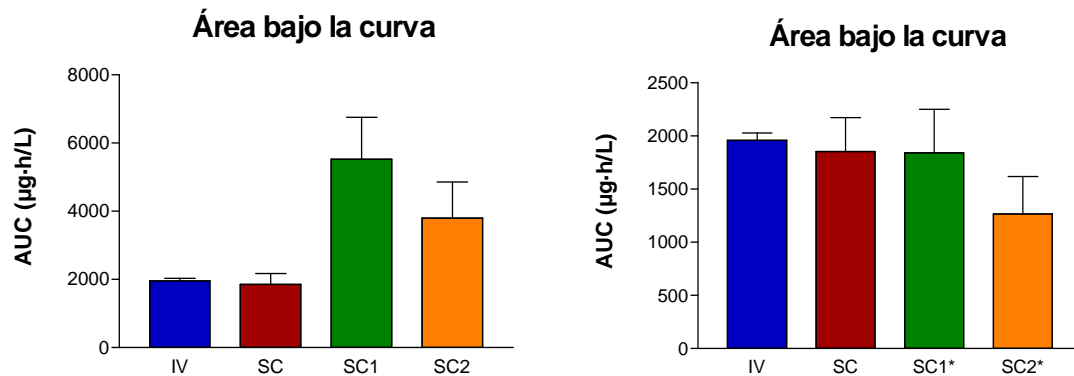
### 5.6.5.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC).

La prueba  $t$  de Student pone de manifiesto que el AUC intravenoso del ciprofloxacino en cabra, aunque es mayor, no presenta diferencias significativas ( $p > 0,05$ ; Tabla 74) con los obtenidos tras la administración subcutánea de enrofloxacino en formulación convencional y formulación SC1 (cuando se corrige el AUC de las formulaciones retardadas a una dosis de 5 mg/kg). Sin embargo, el AUC intravenoso del ciprofloxacino es significativamente superior ( $p < 0,05$ ) al obtenido con la formulación SC2.

El AUC de la formulación subcutánea convencional, no muestra diferencias significativas con la formulación SC1 ( $p > 0,05$ ), pero es estadísticamente superior ( $p <$

0,05) al de la formulación SC2. Esto último ocurre entre las dos formulaciones retardadas, en la que el AUC de la formulación SC1 es estadísticamente superior ( $p < 0,05$ ) a la formulación SC2.

En la siguiente figura (16), se observa de forma gráfica las diferencias existentes en el AUC para el ciprofloxacino en cabras, entre la vía intravenosa y subcutánea con y sin polímero:



**Figura 16.-** Área bajo la curva de niveles plasmáticos (AUC) obtenidos en la cabra para el ciprofloxacino tras la administración de enrofloxacin vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg. A la derecha, los valores de AUC de ciprofloxacino tras la administración de enrofloxacin vía SC1 y SC2, corregidos a una dosis de 5 mg/kg\*.

## **5.7.- ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE LA EXCRECIÓN EN LECHE DE ENROFLOXACINO Y SU METABOLITO ACTIVO CIPROFLOXACINO.**

El tratamiento sistémico de la mastitis requiere un fármaco que penetre ampliamente desde la sangre a la leche. La difusión pasiva no-iónica en la ubre se ve afectada por las propiedades fisicoquímicas del fármaco (Atkinson y Begg, 1990).

Enrofloxacin, como otras fluoroquinolonas, es una molécula anfótera con un  $pK_{a1}$  de 6 y un  $pK_{a2}$  de 8,8 (Martínez y cols., 2006). El pH de la leche de cabra tiene un rango entre 6,6 y 6,8, por lo que el enrofloxacin pasa de la sangre a la leche y queda retenido por un mecanismo de captación iónica mostrando así una amplia penetración (Atkinson y Begg, 1990).

Ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacin, penetra en leche y queda retenido por el mismo mecanismo de enrofloxacin al ser también una molécula anfótera con  $pK_{a1}$  de 6 y  $pK_{a2}$  de 8,7 (Martínez y cols., 2006).

### **5.7.1.- EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ENROFLOXACINO Y CIPROFLOXACINO EN LECHE: ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE ENROFLOXACINO.**

La evolución de las concentraciones medias (media  $\pm$  SD) experimentales de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacino, obtenidas en leche de cabra tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin vía intravenosa se muestra en el Gráfico 71, en el que se puede observar como se detectan concentraciones de ambos hasta las 32 h posteriores a la administración del enrofloxacin. En un estudio realizado por Abo El-Sooud, (2003), en el que se administró una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin vía intravenosa a cabras, se detectaron concentraciones en leche de enrofloxacin hasta las 24 h posteriores a su administración, 8 horas menos que en nuestro estudio.

Los valores de concentraciones medias (media  $\pm$  SD) en leche se representan junto a las concentraciones medias plasmáticas (media  $\pm$  SD), tanto de enrofloxacin como de ciprofloxacino, en los Gráficos 77 y 81, respectivamente. En el Gráfico 81, se puede observar como las concentraciones en leche de ciprofloxacino son superiores a

las plasmáticas y se mantienen durante un periodo de tiempo más prolongado, concretamente 32 horas en leche, frente a las 12 horas en plasma, lo que resulta interesante para el tratamiento de la mastitis.

En un estudio realizado en cabras, tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de ciprofloxacino, éste podía ser detectado en plasma y en leche hasta 10 h posteriores a su administración (El-Banna y Abo El-Sooud, 1998). En nuestro estudio, se detectan concentraciones en leche hasta las 32 horas después de la administración del enrofloxacino.

En la Tablas 80 y 87, se muestra la media de los parámetros farmacocinéticos así como los estadísticos de desviación, obtenidos por análisis no compartimental para el enrofloxacino y su metabolito, ciprofloxacino, respectivamente. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación, junto con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tablas 81 y 88), revelan que los parámetros son homogéneos y no existen diferencias significativas para un mismo parámetro.

#### **5.7.1.1.- TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT).**

En la leche, el MRT alcanza un valor de 4,30 h para el enrofloxacino (Tabla 80) y 5,94 h para el ciprofloxacino (Tabla 87). Si comparamos estos valores con los hallados en plasma, 3,47 y 3,73 h (Tablas 11 y 17), respectivamente, podemos deducir que las concentraciones alcanzadas en leche resultan ser más persistentes que las plasmáticas.

En vacas, tras la administración de una dosis de enrofloxacino de 5 mg/kg de enrofloxacino vía intravenosa, se describió un MRT 0,4 h inferior al hallado en nuestro estudio (3,9 h; Malbe y cols., 1996). En cuanto al metabolito ciprofloxacino, como ocurre en el presente estudio, reportan un MRT muy superior al de enrofloxacino, concretamente de 11,95 h, casi el doble del hallado por nosotros. Así, en vacas, las concentraciones alcanzadas en leche para el metabolito ciprofloxacino permanecen durante más tiempo que en la cabra.

### 5.7.1.2.- TIEMPO MÁXIMO ( $T_{m\acute{a}x}$ ) Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA ( $C_{m\acute{a}x}$ ).

El  $T_{m\acute{a}x}$  del enrofloxacinó ha sido de 1,6 h (Tabla 80) y de 2 h para su metabolito ciprofloxacino (Tabla 87).

En el estudio realizado por Malbe y cols. (1996), obtuvieron un  $T_{m\acute{a}x}$  para el enrofloxacinó en leche de 0,77 h y para su metabolito ciprofloxacino, de 8 horas. Como podemos observar el valor hallado de  $T_{m\acute{a}x}$  para el ciprofloxacino fue muy superior al descrito en nuestro estudio.

Para otras fluoroquinolonas administradas en cabras vía intravenosa, se han descrito valores de  $T_{m\acute{a}x}$  en leche superiores e inferiores a las descritas en nuestro estudio. Así, para moxifloxacino y orbifloxacino, se obtuvieron valores superiores, concretamente de 2 y 1,83 h (Fernández-Varón y cols., 2006a; Marín y cols., 2007a). En cambio, cuando se administró difloxacino vía intravenosa, se obtuvo un valor de  $T_{m\acute{a}x}$  de 1,17 h, inferior al descrito en el presente estudio (Marín y cols., 2007c).

En cuanto a la  $C_{m\acute{a}x}$  en leche, el valor obtenido para el enrofloxacinó en cabra tras la administración de una dosis de 5 mg/kg, ha sido de 2354,63  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 80), y para su metabolito ciprofloxacino, ha sido de 2728,04  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 87), algo superior.

En cabras cuando se administró difloxacino vía intravenosa, a una dosis de 5 mg/kg, se obtuvo una  $C_{m\acute{a}x}$  de 2120  $\mu\text{g/L}$ , similar a la hallada en nuestro estudio (Marín y cols., 2007c). Para otras fluoroquinolonas como moxifloxacino y orbifloxacino, han sido reportados valores de  $C_{m\acute{a}x}$  superiores e inferiores, concretamente de 3656,19 y 1560  $\mu\text{g/L}$ , cuando se administró una dosis de 5 y 2,5 mg/kg, respectivamente (Fernández-Varón y cols., 2006a; Marín y cols., 2007a).

### 5.7.1.3.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC) y RATIO $AUC_{leche}/AUC_{plasma}$ .

Otro parámetro de interés es el área bajo la curva de concentración en leche-tiempo ( $AUC_{leche}$ ), obtenido tras la administración intravenosa del enrofloxacinó a una dosis de 5 mg/kg, que alcanza un valor de 9292,28  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  para el enrofloxacinó (Tabla 80) y 17510,75  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  para su metabolito ciprofloxacino (Tabla 87). Un valor

prácticamente igual, 9260  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ , ha sido descrito para pefloxacino en cabras, al administrar una dosis de 10 mg/kg (Abd El-Aty y Goudah, 2002).

Como se puede comprobar, el AUC obtenido para el metabolito ciprofloxacino, es aproximadamente el doble del AUC del enrofloxacino.

En vacas, al administrar vía intravenosa una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino, el AUC para el enrofloxacino fue 6633,33  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  y para el ciprofloxacino 15833,33  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Malbe y cols., 1996). Como podemos observar, igual que ocurre en nuestro estudio, el AUC para el ciprofloxacino es superior al del enrofloxacino.

Otros estudios realizados en cabras y para otras fluoroquinolonas, muestran valores de AUC superiores e inferiores a los descritos en el presente estudio. Así, para difloxacino, al administrar una dosis de 5 mg/kg se obtuvo un valor de 10420  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ , 1,12 veces superior al descrito en nuestro estudio (Marín y cols., 2007c). En el caso de orbifloxacino, al administrar una dosis de 2,5 mg/kg, el resultado para el AUC fue de 6360  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ , 1,5 veces inferior al nuestro (Marín y cols., 2007a).

Este parámetro resulta necesario para calcular la penetración del enrofloxacino y su metabolito ciprofloxacino en leche mediante la relación  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$  de cada producto.

Los valores de la ratio  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$  para el enrofloxacino y para su metabolito ciprofloxacino, han sido de 0,43 y 8,99, respectivamente (Tablas 80 y 87). En el caso del enrofloxacino, este valor indicaría que la penetración del enrofloxacino en leche tras la administración intravenosa de enrofloxacino es pobre. Al contrario, en el caso del metabolito ciprofloxacino, este valor nos indica su alta penetración en leche que induce a pensar que podría existir acumulación del antibiótico en leche.

En el caso de ibafloxacino en cabras, se ha descrito un valor de  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$  inferior al descrito en nuestro estudio para enrofloxacino, por lo que igualmente, su penetración en leche es muy baja (0,20; Marín y cols., 2007b). No ocurre lo mismo con pefloxacino (Abd El-Aty y Goudah, 2002), moxifloxacino (Fernández-Varón y cols., 2006a) y orbifloxacino (Marín y cols., 2007a), cuyas ratios  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$  fueron de 3,33, 1,86 y 1,02, respectivamente; valores que hacen pensar en una buena penetración en leche.



#### **5.7.1.4.- CANTIDAD TOTAL DE ENROFLOXACINO Y CIPROFLOXACINO ELIMINADA EN LECHE.**

La cantidad total de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacin, eliminada en leche tras la administraci3n intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, han supuesto un 0,27% y un 0,35%, respectivamente, de la dosis administrada (Tablas 80 y 87).

En la vaca, se obtuvo un valor inferior y superior para el enrofloxacin y ciprofloxacin, respectivamente, tras la administraci3n de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin v3a intravenosa. Estos valores fueron de 0,04% y 0,8%, respectivamente (Malbe y cols., 1996).

Valores similares a los descritos en nuestro estudio, han sido reportados para otras fluoroquinolonas administradas en cabras v3a intravenosa. Para moxifloxacin y difloxacin, tras administrar una dosis de 5 mg/kg, la cantidad total de f3rmaco eliminada en leche fue de 0,21% y 0,46%, respectivamente (Fern3ndez-Var3n y cols., 2006a; Mar3n y cols., 2007c). En el caso de ibafloxacin y orbifloxacin, se han eliminado unas cantidades en leche de 0,36% y 0,28%, tras administrar una dosis de 15 y 2,5 mg/kg, respectivamente (Mar3n y cols., 2007b; Mar3n y cols., 2007a).

### **5.7.2.- EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ENROFLOXACINO Y CIPROFLOXACINO EN LECHE: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO.**

La evolución de las concentraciones medias (media  $\pm$  SD) experimentales de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacin, obtenidas en leche de cabra tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin vía subcutánea se muestra en el Gráfico 72, en el que se puede observar como se detectan concentraciones de ambos hasta las 32 h posteriores a la administración del enrofloxacin, como ocurría tras su administración intravenosa (Gráfico 71).

Los valores de concentraciones medias (media  $\pm$  SD) en leche se representan junto a las concentraciones medias plasmáticas (media  $\pm$  SD), tanto de enrofloxacin como de ciprofloxacin, en los Gráficos 78 y 82, respectivamente. Podemos observar como en el caso del enrofloxacin (Gráfico 78), las concentraciones plasmáticas superan a las concentraciones en leche e incluso se detectan durante un tiempo más prolongado en plasma (48 h en plasma frente a 32 h en leche). Al contrario ocurre con el ciprofloxacin (Gráfico 82), en el cual las concentraciones en leche son superiores a las plasmáticas y se mantienen durante un periodo de tiempo más prolongado, concretamente 32 horas en leche, frente a las 12 horas en plasma, al igual que ocurría en la vía intravenosa, lo que resulta interesante para el tratamiento de la mastitis.

En la Tablas 94 y 101, se muestra la media de los parámetros farmacocinéticos así como los estadísticos de desviación, obtenidos por análisis no compartimental para el enrofloxacin y su metabolito, ciprofloxacin, respectivamente. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación, junto con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tablas 95 y 102), revelan que los parámetros son homogéneos y no existen diferencias significativas para un mismo parámetro.

#### **5.7.2.1.- TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT).**

El MRT es un parámetro, como se comentó anteriormente, independiente del modelo farmacocinético elegido y tiene un significado análogo al tiempo de vida media que se halla en los modelos compartimentales. El MRT, se obtiene directamente de la curva experimental y puede considerarse como una variable estadística aleatoria.

Este parámetro alcanza un valor de 5,23 h para el enrofloxacin (Tabla 94) y 7,64 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 101). Si nos fijamos bien, estos valores son superiores a los que se hallaron para la vía intravenosa, concretamente los superan en 0,93 y 1,7 h, respectivamente (4,30 y 5,94 h; Tablas 80 y 87). Por tanto, se deduce que las concentraciones alcanzadas en leche tras la administración subcutánea son más persistentes que cuando se administra el enrofloxacin vía intravenosa.

Además, podemos comparar estos valores de MRT obtenidos en leche con los hallados en plasma, que fueron de 6,06 y 5,69 h (Tablas 28 y 34), para enrofloxacin y ciprofloxacino, respectivamente. Como se puede observar, las concentraciones de ciprofloxacino en leche resultan ser más persistentes que las plasmáticas, como ocurría en la vía intravenosa. Al contrario ocurre con las concentraciones de enrofloxacin, las cuales son más persistentes en plasma que en leche.

### **5.7.2.2.- TIEMPO MÁXIMO ( $T_{m\acute{a}x}$ ) Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA ( $C_{m\acute{a}x}$ ).**

El  $T_{m\acute{a}x}$  que se ha obtenido ha sido de 3,2 h para enrofloxacin (Tabla 94) y 4,8 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 101). El  $T_{m\acute{a}x}$  es independiente de la dosis administrada, pero sí se modifica en función de la forma farmacéutica administrada y la vía de administración.

El valor de  $T_{m\acute{a}x}$  obtenido para el enrofloxacin es comparable con el obtenido para el moxifloxacin en cabras tras su administración subcutánea, el cual fue de 3,33 h (Fernández-Varón y cols., 2006a).

Los resultados de  $T_{m\acute{a}x}$  para enrofloxacin y ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacin son superiores en 1,6 y 2,8 veces respectivamente, a los obtenidos tras su administración intravenosa, los cuales fueron de 1,6 h para enrofloxacin (Tabla 80) y 2 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 87).

Para otras fluoroquinolonas administradas en cabras vía subcutánea, se han descrito valores de  $T_{m\acute{a}x}$  en leche superiores e inferiores a las descritas en nuestro estudio. Así, cuando se administró orbifloxacin vía subcutánea se obtuvo un valor de 2 h (Marín y cols, 2007a), valor inferior tanto para el enrofloxacin como para su metabolito, ciprofloxacino. Otra quinolona cuya farmacocinética se ha estudiado tras su excreción en leche ha sido el difloxacin para la cual, tras su administración subcutánea,

el  $T_{m\acute{a}x}$  en leche fue de 4 h (Marín y cols., 2007c), valor superior al descrito en el presente estudio para el enrofloxacin pero inferior al descrito para el ciprofloxacino.

En cuanto a la  $C_{m\acute{a}x}$  en leche, el valor obtenido para el enrofloxacin en cabra tras la administración de una dosis de 5 mg/kg ha sido de 1679,98  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 94), y para su metabolito, ciprofloxacino, ha sido de 2503,39  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 101), valor superior al de enrofloxacin.

Estos resultados de  $C_{m\acute{a}x}$  son inferiores a los descritos para el enrofloxacin y ciprofloxacino en leche, tras la administración intravenosa de enrofloxacin, los cuales fueron de 2354,63  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 80) y 2728,04  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 87), respectivamente. Igual ocurre con otras quinolonas administradas en cabras por las dos vías, concretamente con moxifloxacino y difloxacino. Para moxifloxacino cuando se administró vía intravenosa a una dosis de 5 mg/kg su  $C_{m\acute{a}x}$  hallada en leche fue de 3656,19  $\mu\text{g/L}$ , mientras que cuando se administró vía subcutánea su valor fue de 3216,68  $\mu\text{g/L}$  (Fernández-Varón y cols., 2006a). Para difloxacino se obtuvo un valor de  $C_{m\acute{a}x}$  en leche cuando se administró a igual dosis que en nuestro estudio de 2120  $\mu\text{g/L}$ , en cambio cuando se administró vía subcutánea el valor reportado fue de 1200  $\mu\text{g/L}$  (Marín y cols., 2007c). Los valores obtenidos para la vía subcutánea en ambas quinolonas, moxifloxacino y difloxacino, son superiores e inferiores, respectivamente, con respecto al valor obtenido en nuestro estudio para el enrofloxacin.

Otra quinolona estudiada en cabras fue orbifloxacino, la cual se administró vía subcutánea a una dosis de 2,5 mg/kg. Para esta quinolona la  $C_{m\acute{a}x}$  hallada en leche fue de 1730  $\mu\text{g/L}$  (Marín y cols., 2007a), valor comparable con el obtenido para el enrofloxacin en el presente estudio.

### 5.7.2.3.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC) y RATIO $AUC_{leche}/AUC_{plasma}$

El área bajo la curva de concentración en leche-tiempo (AUC), obtenido tras la administración subcutánea del enrofloxacin a una dosis de 5 mg/kg, alcanza un valor de 9999,04  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  para el enrofloxacin (Tabla 94) y 18995,71  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 101), valores algo superiores a los descrito para la vía intravenosa, los cuales fueron de 9292,28  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 80) y 17510,75  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 87). De la misma manera ocurre al comparar ambos valores de AUC para el

orbifloxacino para ambas vías ( $AUC_{\text{leche iv}} = 6360 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ;  $AUC_{\text{leche sc}} = 7580 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Marín y cols., 2007a).

En cabras, cuando se administró una dosis de 5 mg/kg de difloxacino vía subcutánea, se describió un valor de AUC en leche de 9580  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  comparable al obtenido para enrofloxacino en nuestro estudio (Marín y cols., 2007c).

Otros estudios realizados en cabras con otras fluoroquinolonas, muestran valores de AUC inferiores a los descritos para enrofloxacino en el presente estudio. Así, para el orbifloxacino, al administrar una dosis de 2,5 mg/kg, el resultado de AUC fue de 7580  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , 1,3 veces inferior al nuestro (Marín y cols., 2007a) y para danofloxacino, al administrar una dosis de 6 mg/kg se obtuvo un valor de 5370  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , 1,9 veces inferior al descrito en el presente estudio (Escudero y cols., 2007).

Abd El-Aty y Goudah. (2002), obtuvieron para pefloxacino, administrado vía intramuscular en cabras a una dosis de 10 mg/kg, un valor de AUC en leche inferior al descrito para enrofloxacino en nuestro estudio, concretamente de 6610  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ .

Este parámetro nos permite, al igual que en la vía intravenosa, calcular la penetración del enrofloxacino y su metabolito, ciprofloxacino, en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino vía subcutánea. Para ello se calcula la ratio que relaciona las AUC en leche del enrofloxacino y ciprofloxacino, obtenidas tras la administración subcutánea del enrofloxacino, con las AUC plasmáticas de cada fármaco, respectivamente.

Los valores de la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$  para el enrofloxacino y para su metabolito, ciprofloxacino, han sido de 0,64 y 10,15, respectivamente (Tablas 94 y 101). Estos resultados son algo superiores a los obtenidos para la vía intravenosa, los cuales fueron de 0,43 y 8,99 (Tablas 80 y 87), teniendo el mismo significado, es decir, en el caso del enrofloxacino, este valor indicaría que la penetración del enrofloxacino en leche tras la administración intravenosa y subcutánea de enrofloxacino sería pobre. Al contrario, en el caso del metabolito, ciprofloxacino, este valor nos indica su alta penetración en leche que induce a pensar que podría existir acumulación del antibiótico en leche.

Para otras fluoroquinolonas en cabras, se han descrito valores de la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$  superiores a los hallados en nuestro estudio para el enrofloxacino. Así, moxifloxacino, orbifloxacino y difloxacino, obtienen un valor de de

$AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$  de 2,33, 1,15 y 0,68, respectivamente (Fernández-Varón y cols., 2006a; Marín y cols., 2007a; Marín cols., 2007c). Como se puede comprobar tanto moxifloxacino como orbifloxacino tienen una buena penetración en leche tras su administración subcutánea, al igual que ocurría cuando se administraban vía intravenosa.

También se ha reportado un valor de  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$  superior para pefloxacino cuando se administró vía intramuscular en cabras, alcanzando un valor de 3,36 (Abd El-Aty y Goudah, 2002).

#### **5.7.2.4.- RATIO $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$**

Otro parámetro que nos permite, calcular la penetración del enrofloxacino y su metabolito, ciprofloxacino en leche, al igual que la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ , es la ratio  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino vía subcutánea. Para ello se calcula la ratio que relaciona las  $C_{\text{máx}}$  en leche del enrofloxacino y ciprofloxacino, obtenidas tras la administración subcutánea del enrofloxacino, con las  $C_{\text{máx}}$  plasmáticas de cada fármaco, respectivamente.

Los valores de la ratio  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  han sido de 0,76 y 9,41, para el enrofloxacino y ciprofloxacino (Tablas 94 y 101), respectivamente, resultados similares a los obtenidos para la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$  los cuales fueron de 0,64 y 10,15, respectivamente (Tablas 94 y 101).

Esta ratio al igual que la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ , nos indicaría lo mismo, es decir, que la penetración del enrofloxacino en leche es baja y la de el ciprofloxacino es mucho más alta que induce a pensar que pueda existir cierta acumulación del antibiótico en leche.

Ratios superiores a las descritas por nosotros para enrofloxacino han sido publicadas para moxifloxacino, orbifloxacino y difloxacino, tras ser administradas vía subcutánea en cabras. Estas ratios fueron de 1,87, 0,95 y 0,90, respectivamente (Fernández-Varón y cols., 2006a; Marín y cols., 2007a; Marín cols., 2007c). También se ha reportado una ratio superior para pefloxacino cuando se administró vía intramuscular en cabras, que fue de 0,9 (Abd El-Aty y Goudah, 2002).

### **5.7.2.5.- CANTIDAD TOTAL DE ENROFLOXACINO Y CIPROFLOXACINO ELIMINADA EN LECHE.**

La cantidad total de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacino, eliminada en leche tras la administraci3n subcut3nea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, han supuesto un 0,24% y un 0,35%, respectivamente, de la dosis administrada. Estos valores son pr3cticamente iguales a los hallados para la v3a intravenosa, los cuales fueron del 0,27% y un 0,35%, respectivamente, de la dosis administrada (Tablas 80 y 87).

Valores similares a los descritos en nuestro estudio, han sido reportados para otras fluoroquinolonas administradas en cabras v3a subcut3nea. Para moxifloxacino y difloxacino, tras administrar una dosis de 5 mg/kg, la cantidad total de f3rmaco eliminada en leche fue de 0,29% y 0,35%, respectivamente (Fern3ndez-Var3n y cols., 2006a; Mar3n y cols., 2007c). En el caso de orbifloxacino, se han eliminado una cantidad en leche de 0,32% tras administrar una dosis de 2,5 mg/kg (Mar3n y cols., 2007a). Estos valores tambi3n son similares a los obtenidos cuando se administraron las mismas quinolonas por v3a intravenosa.

### **5.7.3.- EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ENROFLOXACINO Y CIPROFLOXACINO EN LECHE: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25%.**

La evolución de las concentraciones medias (media  $\pm$  SD) experimentales de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacino, obtenidas en leche de cabra tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC1 vía subcutánea se muestra en el Gráfico 73, en el que se puede observar como se detectan concentraciones de enrofloxacin en leche hasta las 96 h posteriores a la administración del enrofloxacin, mientras que de ciprofloxacino las concentraciones son detectables hasta las 72 h. Anteriormente tras la administración del enrofloxacin vía intravenosa y vía subcutánea sin el polímero a una dosis de 5 mg/kg, se detectaban concentraciones en leche, tanto para enrofloxacin como para el metabolito, ciprofloxacino, hasta las 32 h posteriores a la administración del enrofloxacin (Gráficos 71 y 72).

Los valores de concentraciones medias (media  $\pm$  SD) en leche se representan junto a las concentraciones medias plasmáticas (media  $\pm$  SD), tanto de enrofloxacin como de ciprofloxacino, en los Gráficos 79 y 83, respectivamente. Podemos observar como en el caso del enrofloxacin (Gráfico 79), las concentraciones plasmáticas son superiores pero se detectan al igual que las concentraciones en leche hasta las 96 h posteriores a la administración del enrofloxacin. No ocurre lo mismo con el ciprofloxacino (Gráfico 83), en el cual las concentraciones en leche son superiores a las plasmáticas y se mantienen durante un periodo de tiempo más prolongado, concretamente 72 horas en leche, frente a las 32 horas en plasma, al igual que ocurría tras la administración del enrofloxacin vía intravenosa y subcutánea sin polímero P407, lo que resulta interesante para el tratamiento de la mastitis.

En la Tablas 108 y 115, se muestra la media de los parámetros farmacocinéticos así como los estadísticos de desviación, obtenidos por análisis no compartimental para el enrofloxacin y su metabolito, ciprofloxacino, respectivamente. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación, junto con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tablas 109 y 116), revelan que los parámetros son homogéneos y no existen diferencias significativas para un mismo parámetro.



No existen en la literatura estudios farmacocinéticos de las concentraciones de fluoroquinolonas en leche realizados en animales, tras su administración en fórmulas de liberación retardada como es el polímero P407, por lo que los parámetros farmacocinéticos obtenidos tan solo pueden ser comparados con los obtenidos en nuestro estudio para otras vías sin polímero (vía intravenosa y subcutánea).

### **5.7.3.1.- TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT).**

Tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC1, el MRT alcanza un valor de 11,41 h para el enrofloxacino (Tabla 108) y 13,75 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 115).

Respecto al enrofloxacino, el valor de MRT obtenido en leche tras su administración en formulación SC1 es superior en 2,7 veces al descrito para la vía intravenosa (4,30 h; Tabla 80) y en 2,28 veces al hallado tras su administración subcutánea sin polímero (5,23 h; Tabla 94). Esta diferencia es algo inferior al comparar los valores de MRT del ciprofloxacino, aunque siguen siendo muy superiores los MRT obtenidos tras administrar el enrofloxacino en formulación SC1, concretamente 2,3 y 1,8 veces superiores a los hallados vía intravenosa y subcutánea sin polímero, respectivamente (5,94 y 7,64 h; Tablas 87 y 101). Hay que tener en cuenta que la dosis empleada para la administración del enrofloxacino vía intravenosa y subcutánea sin polímero P407 fue de 5 mg/kg.

Al igual que para anteriores vías, podemos comparar estos valores de MRT obtenidos en leche con los hallados en plasma, que fueron de 10,13 y 13,09 h (Tablas 45 y 51), para enrofloxacino y ciprofloxacino, respectivamente. Como se puede observar, las concentraciones tanto de enrofloxacino como de ciprofloxacino en leche resultan ser más persistentes que las plasmáticas, como ocurría en la vía intravenosa. En cambio, en la vía subcutánea sin polímero, sólo las concentraciones de ciprofloxacino en leche permanecían durante más tiempo que las plasmáticas.

### 5.7.3.2.- TIEMPO MÁXIMO ( $T_{m\acute{a}x}$ ) Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA ( $C_{m\acute{a}x}$ ).

Otro parámetro a tener en cuenta tras la administración subcutánea del enrofloxacino en formulación SC1 es el tiempo en que se alcanza la concentración máxima en leche o tiempo máximo ( $T_{m\acute{a}x}$ ). El valor que se ha obtenido de este parámetro ha sido de 5,6 h para enrofloxacino (Tabla 108) y 6,33 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 115).

Los resultados de  $T_{m\acute{a}x}$  para enrofloxacino y ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% son superiores en 4 y 4,33 h respectivamente, a los obtenidos tras su administración intravenosa, los cuales fueron de 1,6 h para enrofloxacino (Tabla 80) y 2 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 87). Igualmente ocurre si los comparamos con los valores de  $T_{m\acute{a}x}$  para enrofloxacino y ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacino sin polímero, aunque la diferencia es inferior. Estos valores (3,2 y 4,8 h; Tablas 94 y 101) serían 2,4 y 1,53 h inferiores a las descritas tras administrar el enrofloxacino en formulación SC1.

En cuanto a la  $C_{m\acute{a}x}$  en leche, el valor obtenido para el enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% en cabras tras la administración de una dosis de 15 mg/kg ha sido de 2275,26  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 101), y para su metabolito, ciprofloxacino, ha sido de 2825,64  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 115), valor superior al de enrofloxacino como ocurría en anteriores vías.

En el presente estudio la  $C_{m\acute{a}x}$  en leche por el enrofloxacino cuando se administra por vía subcutánea en formulación SC1 (2275,26  $\mu\text{g/L}$ ) es muy similar a la alcanzada cuando se administró en enrofloxacino vía intravenosa a una dosis de 5 mg/kg, la cual fue de 2354,63  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 80). Sin embargo, respecto a la vía subcutánea sin polímero, la  $C_{m\acute{a}x}$  alcanzada en leche por el enrofloxacino cuando se administra por vía subcutánea en formulación SC1 es 1,35 veces superior a la concentración alcanzada tras la administración subcutánea sin polímero (1679,98  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 94), teniendo en cuenta que la administración del enrofloxacino en formulación SC1 se hizo a una dosis de 15 mg/kg, en lugar de 5 mg/kg en el caso del enrofloxacino sin polímero.

En cuanto a los resultados de  $C_{m\acute{a}x}$  obtenidos para el ciprofloxacino tras la administración del enrofloxacino en en formulación SC1, podemos decir que si bien son

muy similares a los obtenidos tras la administración del enrofloxacinó vía intravenosa y subcutánea sin polímero, son algo superiores a ambos, concretamente en 1,04 y 1,13 veces, respectivamente ( $C_{\text{máx cipro iv}} = 2728,04 \mu\text{g/L}$ , Tabla 87;  $C_{\text{máx cipro sc}} = 2503,39 \mu\text{g/L}$ , Tabla 101).

### 5.7.3.3.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC) y RATIO $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ .

El área bajo la curva de concentración en leche-tiempo (AUC), obtenido tras la administración subcutánea del enrofloxacinó en formulación SC1 a una dosis de 15 mg/kg, alcanza un valor de 24457,54  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  para el enrofloxacinó (Tabla 108) y 34573,92  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 115).

El valor de AUC para enrofloxacinó en leche es muy superior al hallado cuando administramos el enrofloxacinó vía intravenosa y subcutánea sin polímero, concretamente es casi 2,6 veces superior al descrito para el enrofloxacinó cuando administramos el enrofloxacinó vía intravenosa (9292,28  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tabla 80) y 2,5 veces superior al obtenido cuando se administró el enrofloxacinó vía subcutánea (9999,04  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tabla 94). Hay que tener en cuenta que la dosis administrada de enrofloxacinó en las vías intravenosa y subcutánea sin polímero fue de 5 mg/kg.

Al igual que ocurría en anteriores vías de administración del enrofloxacinó, intravenosa y subcutánea sin polímero P407, se puede comprobar como el AUC obtenido para el metabolito, ciprofloxacino, es superior al AUC del enrofloxacinó. En este caso, es aproximadamente 1,4 veces superior.

También, el valor de AUC para el ciprofloxacino en leche obtenido tras administrar el enrofloxacinó en formulación SC1 es superior al descrito para el ciprofloxacino en la vía intravenosa, aproximadamente el doble (17510,75  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tabla 87). Del mismo modo, también es superior al hallado para la vía subcutánea al administrar el enrofloxacinó sin polímero, cuyo valor es 1,8 veces superior (18995,71  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tabla 101) al descrito tras administrar el enrofloxacinó con polímero. Todo ello teniendo en cuenta que la dosis administrada de enrofloxacinó vía subcutánea en formulación SC1 es el triple de la administrada vía intravenosa y subcutánea sin polímero.

A partir de este parámetro, al igual que en anteriores vías, calcularemos la penetración del enrofloxacino y su metabolito, ciprofloxacino en leche, tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC1 vía subcutánea. Para ello se calcula la ratio que relaciona las áreas bajo la curva de concentración en leche-tiempo del enrofloxacino y ciprofloxacino, obtenidas tras la administración subcutánea del enrofloxacino en en formulación SC1, con las áreas totales bajo la curva de concentración plasmática de cada fármaco, respectivamente.

Los valores de la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$  para el enrofloxacino y para su metabolito, ciprofloxacino, han sido de 0,68 y 6,40, respectivamente (Tablas 108 y 115). En el caso del enrofloxacino este valor indicaría, al igual que en anteriores ratios calculadas para la vía intravenosa y subcutánea sin polímero, que la penetración del enrofloxacino en leche tras la administración de enrofloxacino en formulación SC1 es pobre. Al contrario, en el caso del metabolito, ciprofloxacino, este valor nos indica su alta penetración en leche que induce a pensar que podría existir acumulación del antibiótico en leche.

El valor de la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$  obtenido para el enrofloxacino, es similar al obtenido para el difloxacino cuando se administró en cabras a una dosis de 5 mg/kg vía subcutánea, el cual fue de 0,68 (Marín y cols., 2007c).

La ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$  para el enrofloxacino es algo superior a la descrita en la vía intravenosa (0,43; Tabla 80) y en la vía subcutánea sin polímero (0,64; Tabla 94). En todos los casos el  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$  es inferior a 1.

En el caso del ciprofloxacino, la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$  obtenida al administrar el enrofloxacino en formulación SC1 es inferior a la descrita para la vía intravenosa (8,99; Tabla 87) y para la vía subcutánea sin polímero (10,16; Tabla 101). Por tanto, el ciprofloxacino penetraría más en leche cuando se administra sin polímero P407 y por vía subcutánea.

#### **5.7.3.4.- RATIO $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$**

Otro parámetro que nos permite, calcular la penetración del enrofloxacino y su metabolito, ciprofloxacino en leche, al igual que la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ , es la ratio  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC1.

Los valores de la ratio  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  han sido de 0,68 y 6,90, para el enrofloxacin y ciprofloxacino (Tablas 108 y 115), respectivamente, resultados similares a los obtenidos para la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$  los cuales eran de 0,68 y 6,40, respectivamente (Tablas 108 y 115).

Esta ratio al igual que la ratio  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ , nos indicaría lo mismo, es decir, que la penetración del enrofloxacin en leche es baja y la de el ciprofloxacino es mucho más alta que induce a pensar que pueda existir cierta acumulación del antibiótico en leche.

Al comparar con las ratios  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  del enrofloxacin y ciprofloxacino, descritas para la vía subcutánea sin polímero ( $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma sc enro}} = 0,76$ , Tabla 94;  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma sc cipro}} = 9,41$ , Tabla 101), se puede observar como la penetración tanto del enrofloxacin como del ciprofloxacino es superior cuando se administra el enrofloxacin vía subcutánea sin polímero.

### **5.7.3.5.- CANTIDAD TOTAL DE ENROFLOXACINO Y CIPROFLOXACINO ELIMINADA EN LECHE.**

La cantidad total de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacino, eliminada en leche tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC1, han supuesto un 0,11% y un 0,16%, respectivamente, de la dosis administrada de enrofloxacin (Tablas 108 y 115).

Estos valores son inferiores a los hallados para la vía subcutánea sin polímero, los cuales fueron del 0,24% y un 0,35%, respectivamente, de la dosis administrada (Tablas 94 y 101). También son inferiores a los descritos para la vía intravenosa, que fueron de 0,27% y 0,35%, para en enrofloxacin ciprofloxacino, respectivamente, de la dosis administrada (Tablas 80 y 87).

Por tanto, la cantidad eliminada por leche de enrofloxacin y su metabolito, ciprofloxacino, es superior cuando se administra el enrofloxacin vía intravenosa y subcutánea sin polímero.

#### **5.7.4.- EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ENROFLOXACINO Y CIPROFLOXACINO EN LECHE: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2%.**

La evolución de las concentraciones medias (media  $\pm$  SD) experimentales de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacino, obtenidas en leche de cabra tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en en formulación SC2 vía subcutánea se muestra en el Gráfico 74, en el que se puede observar como se detectan concentraciones de enrofloxacin en leche hasta las 120 h posteriores a la administración del enrofloxacin, mientras que de ciprofloxacino las concentraciones son detectables hasta las 96 h.

Si comparamos estos resultados con los obtenidos tras administrar el enrofloxacin en formulación SC1, se puede observar como las concentraciones de enrofloxacin se detectan igualmente hasta las 120 h, mientras que para el ciprofloxacino, el añadir carboximetilcelulosa a la formulación hace que sus concentraciones en leche se detecten hasta 24 horas más que cuando que en el caso de la formula sin carboximetilcelulosa (Gráfico 73). Anteriormente tras la administración del enrofloxacin vía intravenosa y vía subcutánea sin el polímero a una dosis de 5 mg/kg, se detectaban concentraciones en leche, tanto para enrofloxacin como para el metabolito, ciprofloxacino, hasta las 32 h posteriores a la administración del enrofloxacin (Gráficos 71 y 72).

Los valores de concentraciones medias (media  $\pm$  SD) en leche se representan junto a las concentraciones medias plasmáticas (media  $\pm$  SD), tanto de enrofloxacin como de ciprofloxacino, en los Gráficos 80 y 84, respectivamente. Podemos observar como en el caso del enrofloxacin (Gráfico 80), las concentraciones plasmáticas son algo superiores y se detectan al igual que las concentraciones en leche hasta las 120 h posteriores a la administración del enrofloxacin. No ocurre lo mismo con el ciprofloxacino (Gráfico 84), en el cual las concentraciones en leche son superiores a las plasmáticas y se mantienen durante un periodo de tiempo más prolongado, concretamente 96 horas en leche, frente a las 32 horas en plasma.

En la Tablas 122 y 129, se muestra la media de los parámetros farmacocinéticos así como los estadísticos de desviación, obtenidos por análisis no compartimental para el enrofloxacino y su metabolito, ciprofloxacino, respectivamente. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación, junto con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tablas 123 y 130), revelan que los parámetros son homogéneos y no existen diferencias significativas para un mismo parámetro.

Al igual que comentamos con la formulación del enrofloxacino en formulación SC1, no existen en la literatura estudios farmacocinéticos de las concentraciones de fluoroquinolonas en leche (tampoco en plasma) realizados en animales, tras su administración en fórmulas de liberación retardada como es la formulación SC2, por lo que los parámetros farmacocinéticos obtenidos tan solo pueden ser comparados con los obtenidos en nuestro estudio para otras vías sin polímero, vía intravenosa y subcutánea, y para la vía subcutánea con polímero P407.

#### **5.7.4.1.- TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT).**

Tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC2, el MRT alcanza un valor de 25,34 h para el enrofloxacino (Tabla 122) y 20,26 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 129).

En el caso del enrofloxacino, el valor de MRT obtenido en leche tras su administración en formulación SC2 es superior en 21 h al descrito para la vía intravenosa (4,30 h; Tabla 80) y en aproximadamente 20 h al hallado tras su administración subcutánea sin polímero (5,23 h; Tabla 94). Una diferencia algo inferior se obtiene al compararlo con el valor de MRT obtenido en leche para el enrofloxacino cuando se administra en formulación SC1. En este caso la diferencia es de casi 14 h (11,41 h; Tabla 108).

Para el ciprofloxacino, al comparar el valor MRT, también sigue siendo muy superior el MRT obtenido tras administrar el enrofloxacino en formulación SC2, concretamente 3,4 y 2,7 veces superior, al hallado para la vía intravenosa y subcutánea sin polímero, respectivamente (5,94 y 7,64 h; Tablas 87 y 101). Hay que tener en cuenta que la dosis empleada para la administración del enrofloxacino vía intravenosa y subcutánea sin polímero P407 fue de 5 mg/kg. Igualmente, el valor de MRT para el ciprofloxacino tras la administración del enrofloxacino en en formulación SC2 es 1,5

veces superior al descrito para ciprofloxacino tras administra el enrofloxacino en formulación SC1 (13,75 h; Tabla 115).

Al igual que hacíamos para anteriores vías, podemos comparar estos valores de MRT obtenidos en leche con los hallados en plasma, que fueron de 26,09 y 15,34 h (Tablas 62 y 68), para enrofloxacino y ciprofloxacino, respectivamente. Como se puede observar, al igual que ocurría en la vía subcutánea sin polímero, las concentraciones de enrofloxacino en plasma permanecen más tiempo que en leche. Sin embargo, en el caso del ciprofloxacino, las concentraciones en leche resultan ser más persistentes que las plasmáticas, como ocurría en anteriores vías.

#### **5.7.4.2.- TIEMPO MÁXIMO ( $T_{m\acute{a}x}$ ) Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA ( $C_{m\acute{a}x}$ ).**

El valor obtenido para  $T_{m\acute{a}x}$  ha sido de 6 h para enrofloxacino (Tabla 122) y 7,20 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 129), tras la administración subcutánea del enrofloxacino en formulación SC2.

Estos resultados de  $T_{m\acute{a}x}$  para enrofloxacino y ciprofloxacino son algo superiores, en 1,6 y 0,87 h respectivamente, a los obtenidos tras su administración subcutánea en en formulación SC1, los cuales fueron de 5,6 y 6,33 h, respectivamente (Tablas 108 y 115). Diferencias más grandes se describen si los comparamos con los valores de  $T_{m\acute{a}x}$  para enrofloxacino y ciprofloxacino tras la administración intravenosa y subcutánea de enrofloxacino sin polímero. Para la vía intravenosa se obtuvieron unos valores de 1,6 y 2,2 h (Tablas 80 y 87), inferiores 4,4 y 5 h, y para la subcutánea sin polímero se hallaron unos valores de 3,2 y 4,8 h (Tabas 94 y 101), inferiores en 2,8 y 2,4 h, a los descritos tras administrar el enrofloxacino en formulación SC2.

En cuanto a la  $C_{m\acute{a}x}$  en leche, el valor obtenido para el enrofloxacino en formulación SC2 en cabras tras la administración de una dosis de 15 mg/kg ha sido de 2162,29  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 122), y para su metabolito, ciprofloxacino, ha sido de 2788,47  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 129), valor superior al de enrofloxacino como ocurría en anteriores vías.

El valor de  $C_{m\acute{a}x}$  en leche para el enrofloxacino cuando se administra por vía subcutánea en formulación SC2 es inferior al alcanzado cuando se administró en enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC1 a una dosis de 15 mg/kg, la cual fue de 2275,26  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 108) e inferior a la descrita cuando se administró enrofloxacino



vía intravenosa a una dosis de 5 mg/kg (2354,63  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 80). Sin embargo, respecto a la vía subcutánea sin polímero, la  $C_{\text{máx}}$  en leche de enrofloxacino cuando se administra por vía subcutánea en formulación SC2 es 1,29 veces superior a la  $C_{\text{máx}}$  en leche alcanzada tras la administración subcutánea sin polímero (1679,98  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 94), teniendo en cuenta que la administración del enrofloxacino junto con polímero se hizo a una dosis de 15 mg/kg, en lugar de 5 mg/kg en el caso del enrofloxacino sin polímero.

En cuanto al resultado de  $C_{\text{máx}}$  obtenidos para el ciprofloxacino (2788,47  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 129) tras la administración del enrofloxacino en formulación SC2, podemos decir que es prácticamente igual al descrito para el ciprofloxacino tras la administración del enrofloxacino en formulación SC1, cuyo valor fue de 2815,64  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 115). Además, es algo superior al obtenido tras la administración del enrofloxacino vía intravenosa y subcutánea sin polímero, concretamente 1,02 y 1,11 veces, respectivamente ( $C_{\text{máx cipro iv}} = 2728,04 \mu\text{g/L}$ , Tabla 87;  $C_{\text{máx cipro sc}} = 2503,39 \mu\text{g/L}$ , Tabla 101).

#### **5.7.4.3.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC) y RATIO $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$**

El AUC en leche-tiempo, obtenido tras la administración subcutánea del enrofloxacino en formulación SC2 a una dosis de 15 mg/kg, alcanza un valor de 29119,12  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  para el enrofloxacino (Tabla 122) y 37847,50  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 129).

Al igual que ocurría en anteriores vías de administración del enrofloxacino, intravenosa, subcutánea y subcutánea con polímero P407, se puede comprobar como el AUC obtenido para el metabolito, ciprofloxacino, es superior al AUC del enrofloxacino. En este caso, es 1,3 veces superior.

Estos valores de AUC en leche son superiores a los descritos para enrofloxacino y ciprofloxacino cuando se administró el enrofloxacino en formulación SC1, concretamente 1,2 y 1,09 veces superiores (24457,54 y 34573,92  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tablas 108 y 115). Diferencias mayores se pueden observar al compararlos con sus respectivos valores para la vía intravenosa y subcutánea sin polímero. Así, en el caso del enrofloxacino, el AUC es 3,13 y 2,91 veces superior al descrito administrar una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino vía intravenosa y subcutánea sin polímero (9292,28 y

9999,04  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tablas 80 y 94), respectivamente. Para el ciprofloxacino, su valor de AUC es superior en 2,16 y 1,99 veces al obtenido tras la administración de 5 mg/kg de enrofloxacinó vía intravenosa y subcutánea sin polímero (9292,28 y 9999,04  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Tablas 80 y 94), respectivamente.

A partir de este parámetro, al igual que en anteriores vías, calcularemos la penetración del enrofloxacinó y su metabolito, ciprofloxacino en leche, tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacinó en formulación SC2 vía subcutánea mediante la ratio que relaciona las áreas bajo la curva de concentración en leche-tiempo del enrofloxacinó y ciprofloxacino, obtenidas tras la administración subcutánea del enrofloxacinó en formulación SC2, con las áreas totales bajo la curva de concentración plasmática de cada fármaco, respectivamente.

Los valores de la ratio  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$  para el enrofloxacinó y para su metabolito, ciprofloxacino, han sido de 0,85 y 10,24, respectivamente (Tablas 122 y 129). En el caso del enrofloxacinó este valor indicaría, al igual que en anteriores ratios calculadas, que la penetración del enrofloxacinó en leche tras la administración de enrofloxacinó en formulación SC2 es baja, si bien como se puede observar con vías anteriores ( $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma iv}} = 0,43$ , Tabla 80;  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma sc}} = 0,64$ , Tabla 94;  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma sc P407}} = 0,68$ , Tabla 108) sería la más elevada.

Para ciprofloxacino la ratio obtenida indica, al igual que en anteriores vías, que su penetración en leche es muy elevada induciendo a pensar que podría existir acumulación del antibiótico en leche. Este valor (10,24; Tabla 129) es muy similar al de la ratio obtenida para  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$  del ciprofloxacino tras la administración del enrofloxacinó vía subcutánea sin polímero (10,16; Tabla 101).

#### **5.7.4.4.- RATIO $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$**

Los valores de la ratio  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  han sido de 0,89 y 12,05, para el enrofloxacinó y ciprofloxacino (Tablas 122 y 129), respectivamente, resultados similares a los obtenidos para la ratio  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$  los cuales eran de 0,85 y 10,24, respectivamente (Tablas 122 y 129).

Esta ratio al igual que la ratio  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$ , nos indicaría lo mismo, es decir, que la penetración del enrofloxacinó en leche es baja y la de el ciprofloxacino es

mucho más alta que induce a pensar que pueda existir cierta acumulación del antibiótico en leche.

Al comparar con los ratios  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$  del enrofloxacin y ciprofloxacino, descritas para la vía subcutánea sin polímero ( $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma sc enro}} = 0,76$ , Tabla 94;  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma sc cipro}} = 9,41$ , Tabla 101) y vía subcutánea con formulación SC1 ( $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma sc enro}} = 0,68$ , Tabla 108;  $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma sc cipro}} = 6,90$ , Tabla 115), se puede observar como la penetración tanto del enrofloxacin como del ciprofloxacino es superior cuando se administra el enrofloxacin vía subcutánea en formulación SC2.

#### **5.7.4.5.- CANTIDAD TOTAL DE ENROFLOXACINO Y CIPROFLOXACINO ELIMINADA EN LECHE.**

La cantidad total de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacino, eliminada en leche tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC2, han supuesto un 0,13% y un 0,16%, respectivamente, de la dosis administrada de enrofloxacin (Tablas 122 y 129).

Estos valores son muy similares a los descritos para la vía subcutánea, al administrar el enrofloxacin en formulación SC1, los cuales fueron del 0,11% y 0,16% de la dosis administrada de enrofloxacin (15 mg/kg). Además, al igual que ocurría en esta vía comentada, estos valores son inferiores a los hallados para la vía subcutánea sin polímero, los cuales fueron del 0,24% y un 0,35%, respectivamente, de la dosis administrada (Tablas 94 y 101) e inferiores a los descritos para la vía intravenosa, que fueron de 0,27% y 0,35%, para el enrofloxacin y ciprofloxacino, respectivamente, de la dosis administrada (Tablas 80 y 87). Tanto para la vía intravenosa como subcutánea sin polímero se administró 5 mg/kg de enrofloxacin.

Por tanto, como se comentó anteriormente, la cantidad eliminada por leche de enrofloxacin y su metabolito, ciprofloxacino, es superior cuando se administra el enrofloxacin vía intravenosa y subcutánea sin polímero.

## **5.8.- COMPARACIÓN ENTRE ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA, SUBCUTÁNEA Y SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN: SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% Y EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2%, Y DE SU METABOLITO, CIPROFLOXACINO.**

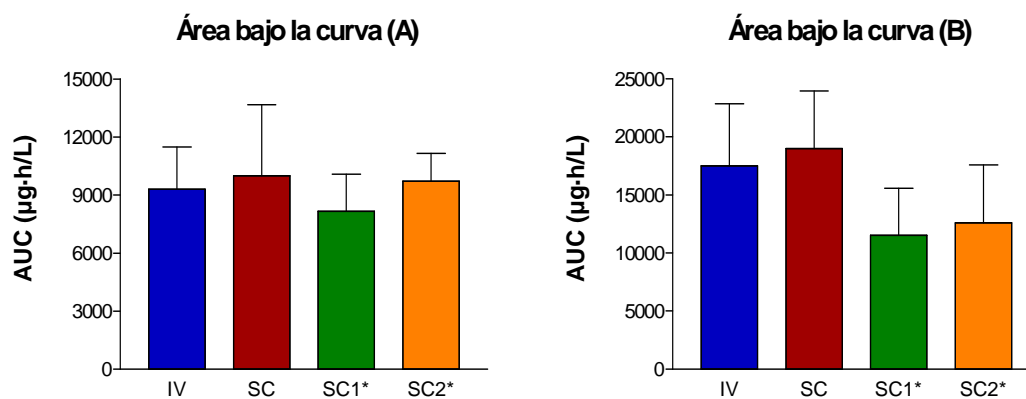
La evolución de las concentraciones en leche de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacino, tras las diversas vías de administración de este estudio, en la cabra, puede observarse gráficamente en los Gráficos 75 y 76, respectivamente. Los parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ambos productos en la leche se muestran en las tablas 131 y 133. En la Tabla 132 y 134, se muestran los resultados del estudio comparativo paramétrico (prueba t-Student) entre ellos.

### **5.8.1.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC).**

La prueba *t* de Student pone de manifiesto que no existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los valores de AUC obtenidos en los 4 casos, si bien resulta menor el obtenido con la formulación SC1. Es preciso señalar que, en el caso de las formulaciones retardadas, se ha corregido el AUC a una dosis 3 veces menor (5 mg/kg). Como podemos observar en la Tabla 131, dichos valores de AUC de las fórmulas de liberación sostenida del enrofloxacin son muy similares.

Respecto al metabolito ciprofloxacino, podemos comentar que ocurre igual que para el enrofloxacin, sólo existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre el AUC de la formulación convencional y el de la formulación SC1, administradas ambas por vía subcutánea (Tabla 134). Los valores de AUC de los cuatro casos estudiados se muestran en la Tabla 133. Si comparamos entre el enrofloxacin (Tabla 131) y el ciprofloxacino (Tabla 133), comprobamos que los valores de AUC de éste último antibiótico resultan superiores a los del enrofloxacin, concretamente 1,9 veces en el caso de las formulaciones convencionales y alrededor de 1,3 veces en el caso de las formulaciones retardadas.

En la siguiente figura (17), se observa de forma gráfica las diferencias existentes en el área bajo la curva de concentración en leche-tiempo para el enrofloxacin (A) y para su metabolito ciprofloxacino (B) en cabras, entre la vía intravenosa y subcutánea con y sin polímero:



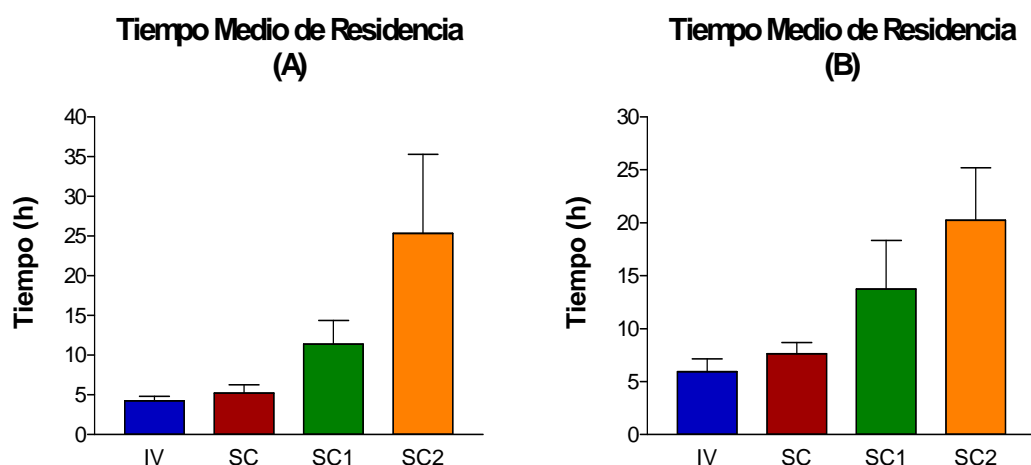
**Figura 17.-** Área bajo la curva de concentración en leche-tiempo (AUC) obtenidos para enrofloxacin (A) y su metabolito, ciprofloxacino (B), en la cabra tras la administración de enrofloxacin por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg. \*Valores de  $AUC_{0-\infty}$  de enrofloxacin (A), y su metabolito, ciprofloxacino (B) obtenidos para la leche, tras su administración vía SC1 y SC2, corregidos a una dosis de 5 mg/kg.

### 5.8.2.- TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT).

El MRT se comporta de forma similar a los tiempos de vida media. Al comparar el valor de MRT intravenoso con los obtenidos en las vías subcutáneas (formulación convencional, en formulación SC1 y SC2), se puede observar que existen diferencias significativas entre todos ellos ( $p < 0,05$ ), a excepción del MRT, obtenido con la formulación convencional, intravenoso y subcutáneo ( $p > 0,05$ ). Como se puede apreciar (Tabla 131), la presencia del enrofloxacin en leche es más prolongada cuando se administra el fármaco vía subcutánea y sobre todo cuando se administra en formulación SC2. Pudiendo ser por tanto, esta vía la de elección a fin de obtener concentraciones del antibiótico en leche durante un mayor periodo de tiempo.

Los valores de MRT del ciprofloxacino en leche para las diferentes vías y formas de administración del enrofloxacino (Tabla 133) son algo superiores a los obtenidos para el enrofloxacino, a excepción de los obtenidos tras la administración del enrofloxacino en formulación SC2 donde el MRT del enrofloxacino es superior al del ciprofloxacino. De ahí, que podamos afirmar que el ciprofloxacino permanece en leche durante más tiempo que el enrofloxacino, con la premisa de la excepción. Hecho que debe ser tenido en cuenta tanto desde el punto de vista terapéutico como sanitario. En la Tabla 134 podemos observar que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre todos los valores de MRT para el ciprofloxacino en leche, excepto en el caso de las formulaciones retardadas, aunque el MRT de la formulación SC2 resulta ser casi 1,5 veces superior.

A continuación (Figura 18), se presentan los valores de MRT de forma gráfica, para el enrofloxacino (A) y ciprofloxacino (B), en los casos estudiados:



**Figura 18.-** Tiempo medio de residencia (MRT) del enrofloxacino (A) y su metabolito, ciprofloxacino (B), en leche obtenido en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

### 5.8.3.- TIEMPO MÁXIMO ( $T_{m\acute{a}x}$ ) Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA ( $C_{m\acute{a}x}$ ).

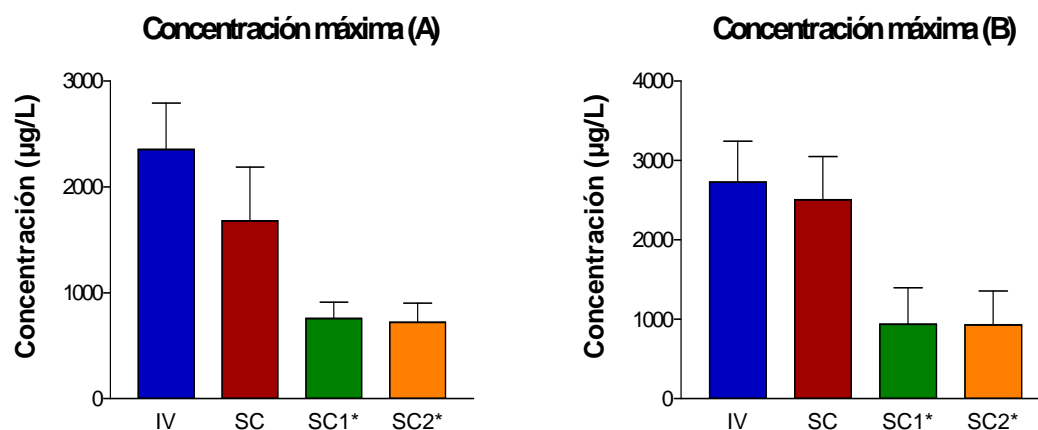
La Tabla 131 pone de manifiesto que se obtiene una mayor  $C_{m\acute{a}x}$  de enrofloxacino en leche así como un  $T_{m\acute{a}x}$  cuando se administra enrofloxacino vía intravenosa. Los valores de  $C_{m\acute{a}x}$  de enrofloxacino no resultan estadísticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) entre las administraciones de la formulación convencional y entre las dos formulaciones retardadas, pero sí en el resto de los casos (Tabla 132).

Si atendemos al  $T_{m\acute{a}x}$  del enrofloxacino, tan sólo entre las dos formulaciones retardadas no existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Por tanto, ambas alcanzan su  $C_{m\acute{a}x}$  en leche a tiempos semejantes, y más tarde que la formulación convencional. Un mayor valor de  $T_{m\acute{a}x}$  cuando se administra en las dos fórmulas de liberación retardada, podría indicar que la penetración del enrofloxacino en la leche es más lenta y prolongada, respecto a la administración del enrofloxacino sólo por vía intravenosa o subcutánea, lo que coincide con obtener menores concentraciones máximas, pero su permanencia en la leche será mayor.

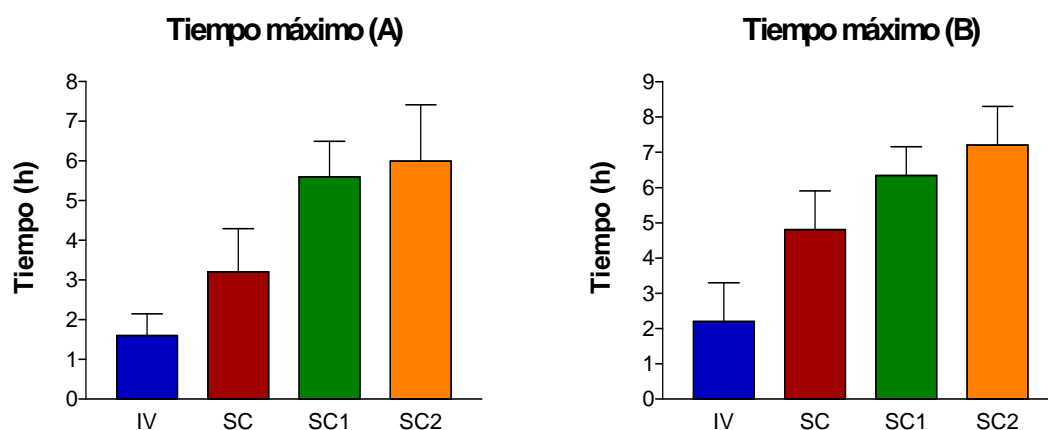
En cuanto al ciprofloxacino, se repite con exactitud lo ocurrido con el enrofloxacino. En la Tabla 133 se puede observar que se obtiene un menor valor de concentración máxima en leche y un mayor tiempo para alcanzar la misma cuando se administra enrofloxacino en alguna de las dos formulaciones de liberación retardada.

Los valores de  $C_{m\acute{a}x}$  de ciprofloxacino no resultan estadísticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) entre las dos administraciones de la formulación convencional y entre las dos formulaciones retardadas, pero sí en el resto de los casos (Tabla 134). En cuanto al  $T_{m\acute{a}x}$  del ciprofloxacino, tan sólo entre las dos formulaciones retardadas no existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ).

En las siguientes figuras (19 y 20), se observa de forma gráfica las diferencias existentes para el enrofloxacino (A) y para su metabolito ciprofloxacino (B) en cabras, entre la vía intravenosa y subcutánea con y sin polímero, con respecto al  $T_{m\acute{a}x}$  de enrofloxacino en leche y la  $C_{m\acute{a}x}$  de enrofloxacino en leche:



**Figura 19.-** Concentración máxima de enrofloxacino (A) y de ciprofloxacino (B) en leche obtenidos en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg. \*Valores de  $C_{m\acute{a}x}$  de enrofloxacino (A), y su metabolito, ciprofloxacino (B) obtenidos para la leche, tras su administración vía SC1 y SC2, corregidos a una dosis de 5 mg/kg.



**Figura 20.-** Tiempo en que se alcanza la concentración máxima de enrofloxacino (A) y ciprofloxacino (B) en leche obtenidos en la cabra tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.



## 5.9.- INTEGRACIÓN FARMACOCINÉTICA/FARMACODINAMIA.

Enrofloxacino y ciprofloxacino, pertenecen al grupo de antibacterianos cuya actividad antimicrobiana es concentración dependiente, es decir, producen la muerte bacteriana en función de la concentración alcanzada. En consecuencia, los dos parámetros farmacocinético-farmacodinámicos (pK-PD), que se correlacionan con mayor frecuencia con el éxito clínico en el tratamiento de una infección y con la aparición de mutantes resistentes son el ratio de concentración plasmática máxima  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  y el ratio área bajo la curva  $AUC/CMI$  (Xuan y cols., 2001).

Con modelos animales y diferentes quinolonas se ha observado que ratios  $AUC/CMI \geq 100-125$  o de  $C_{m\acute{a}x}/CMI \geq 8-10$  son buenos predictores de eficacia clínica (Craig y Dalhoff, 1998; Turnidge, 1999). Si bien, hay que señalar que estos valores numéricos de  $AUC/CMI$  y  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  se han generado de infecciones experimentales en animales de laboratorio o en pruebas clínicas en el hombre, por lo que pueden ser o no aplicables a infecciones en cabras, o en general, a infecciones en animales (Lees y Shojaee Aliabadi, 2002a). Sin embargo, corrigiendo las diferencias interespecíficas, a partir de estudios realizados con modelos animales *in vivo* se puede extrapolar y determinar el valor del parámetro PK-PD necesario para obtener eficacia antimicrobiana y minimizar la aparición de resistencias (Andes y Craig, 2002a; Toutain y Lees, 2004).

Además se debe tener en cuenta, que el medio de cultivo empleado para obtener las CMI utilizadas en la integración PK-PD, difiere en muchos aspectos de los fluidos biológicos (plasma y líquido intersticial). Así se encuentran diferencias en la concentración de iones (calcio y magnesio, que pueden inactivar a ciertos antimicrobianos), el pH (que puede provocar la ionización de los fármacos y por tanto su menor penetración tisular) y la concentración proteica (sólo el fármaco libre posee acción antibacteriana) entre otros. Por tanto, no se puede asumir que los valores de las CMI obtenidos *in vitro* sean idénticos a los obtenidos utilizando los mencionados fluidos biológicos (Shojaee Aliabadi y Lees, 2003).

Algunos autores han sugerido que valores de  $AUC/CMI$ , menores a 100, pueden ser apropiados en Medicina Veterinaria para animales inmunocompetentes. Lees y Shojaee Aliabadi (2002a), tras la administración de danofloxacino en varias especies rumiantes en experiencias *ex vivo*, han observado valores de  $AUC/CMI$  inferiores tal y como se muestra en la tabla siguiente:

AUC/CMI	Ternero	Oveja	Cabra	Camello
<b>Bacteriostático</b>	15,9 ± 2	17,8 ± 1,7	22,6 ± 1,7	17,2 ± 3,6
<b>Bactericida</b>	18,1 ± 1,9	20,2 ± 1,7	29,6 ± 2,5	21,2 ± 3,7
<b>Erradicación</b>	33,5 ± 3,5	28,7 ± 1,8	52,4 ± 8,1	68,7 ± 15,6

Las experiencias realizadas con éstos modelos han identificado al ratio AUC/CMI como el índice que mejor predice el éxito clínico, y al ratio  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  como el que mejor indica las dosis para evitar la aparición de resistencias (Andes y Craig, 2002b).

En el presente estudio se ha determinado la sensibilidad a enrofloxacino y ciprofloxacino de catorce cepas de *Staphylococcus aureus* obtenidas de cabras lactantes con estafilococias crónicas intramamaria en granjas comerciales. Como cepas de referencia se utilizaron *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

De las catorce cepas estudiadas frente a enrofloxacino, seis presentaron CMI de 0,12 µg/mL, cinco CMI de 0,25 µg/mL, dos CMI de 0,5 µg/mL y en la cepa restante una CMI de 1 µg/mL (Tabla 135). En el caso de las cepas estudiadas frente al ciprofloxacino, una presentó CMI de 0,12 µg/mL, seis CMI de 0,25 µg/mL, seis CMI de 0,5 µg/mL y en la cepa restante una CMI de 1 µg/mL (Tabla 138).

Por tanto, en el presente estudio, para las cepas caprinas con CMI frente a enrofloxacino de 0,12 µg/mL, las ratios AUC/CMI, teniendo en cuenta una corrección de los datos a igualdad de dosis (5 mg/kg), calculados para la administración subcutánea de enrofloxacino sin polímero (formulación SC) (AUC/CMI = 128,59), subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (formulación SC1) (AUC/CMI = 104,12) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (formulación SC2) (AUC/CMI = 95,55), predicen *a priori* el éxito clínico del tratamiento con este quimioterápico. Asimismo, las ratios  $C_{m\acute{a}x}/CMI$ , corregidas a igualdad de dosis (5 mg/kg) obtenidas para las tres formulaciones (SC:  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  = 18,58; SC1:  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  = 9,54; SC2:  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  = 6,81), señalan, en principio, que se previene la aparición de mutantes resistentes (Tabla 137) con las dos primeras

formulaciones. Recordamos que esto es en el caso de una dosis de 5 mg/kg en las tres formulaciones. Sin embargo, nosotros hemos utilizado en las formulaciones SC1 y SC2 una dosis de 15 mg/kg. Cuando atendemos a los datos obtenidos en esta situación, al comparar las ratios AUC/CMI, podemos observar los siguientes resultados:

- formulación SC:  $AUC/CMI = 128,59$
- formulación SC1:  $AUC/CMI = 312,16$
- formulación SC2:  $AUC/CMI = 286,66$

Estos datos predicen mucho más claramente el éxito clínico del tratamiento sobre todo con las dos formulaciones retardadas. Asimismo, las ratios  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  obtenidas son:

- formulación SC:  $C_{m\acute{a}x}/CMI = 18,58$
- formulación SC1;  $C_{m\acute{a}x}/CMI = 28,61$
- formulación SC2:  $C_{m\acute{a}x}/CMI = 20,42$

Éstas, señalan que la prevención de la aparición de mutantes resistentes (Tabla 137) está altamente asegurada. En esta situación, para las formulaciones SC1 y SC2, incluso para cepas con CMI de 0,25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  obtendríamos unas ratios  $AUC/CMI > 100$  y  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  entre 8-10 (Tabla 137).

Estos últimos resultados nos indican que con las dos formulaciones de liberación controlada utilizadas en nuestro estudio obtendríamos un éxito clínico y evitaríamos la aparición de resistencias. Concretamente, con las formulaciones SC1 y SC2 se conseguirían unas concentraciones por encima de la CMI hasta 24 y 32 h posteriores a su administración, respectivamente. Sin embargo, con la formulación SC obtendríamos unas concentraciones superiores a la CMI de 0,12  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de tan sólo 12 h posteriores a su administración.

La especialidad medicamentosa de partida, señala como régimen de dosificación una administración subcutánea cada 24 horas (dosis 2,5 mg/kg). Atendiendo a los resultados obtenidos (Tablas 21, 38 y 55), esa pauta puede ser motivo de aparición de resistencias y de ineficacia clínica, ya que con la formulación SC, las concentraciones plasmáticas tan sólo se mantienen por encima de la CMI hasta las 12 horas. En cambio la formulación SC1 mantiene esas concentraciones hasta las 24 horas (es decir se multiplica por 2) y, la formulación SC2, hasta las 32 horas (es decir, se multiplica casi

por 3). Por tanto, la utilización de las formulaciones propuestas permiten, *a priori*, disminuir sensiblemente el número de administraciones.

Para las cepas con CMI de 0,25 µg/mL, la formulación SC parece no eficaz. Sin embargo las formulaciones retardadas obtienen una ratios muy favorables, por lo que clínicamente son más recomendables (Tabla 137).

Por otro lado, podemos decir que en cabras y para las cepas con CMI frente al metabolito de enrofloxacino, ciprofloxacino, tanto de 0,25 como de 0,5 µg/mL, los ratios AUC/CMI calculados tras las vías extravasculares no predicen *a priori* el éxito clínico del tratamiento con el metabolito. Asimismo, los ratios  $C_{m\acute{a}x}$ /CMI obtenidos para las tres vías extravasculares señalan, en principio, que no se previene la aparición de mutantes resistentes (Tabla 140).

## **6.- CONCLUSIONES**

1.- El comportamiento farmacocinético de enrofloxacino tras su administración intravenosa (formulación IV) y subcutánea (formulación SC) en cabra, a una dosis única de 5 mg/kg, y tras su administración subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (formulación SC1) y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (formulación SC2), a una dosis de 15 mg/kg se ajusta a un modelo bicompartimental abierto. Las ecuaciones que los representan son las siguientes:

- IV:  $C = 11660,9232 \cdot e^{-0,6281 t} + 218,9339 \cdot e^{-0,0766 t} \mu\text{g/L}$
- SC:  $C = 50345957,4053 \cdot e^{-0,4216 t} + 108,9172 \cdot e^{-0,0680 t} - 50346066,3225 \cdot e^{-0,4590 t} \mu\text{g/L}$
- SC1:  $C = 18229,7919 \cdot e^{-0,2110 t} + 158,2769 \cdot e^{-0,0365 t} - 18388,0688 \cdot e^{-0,3143 t} \mu\text{g/L}$
- SC2:  $C = 7202,8055 \cdot e^{-0,1879 t} + 153,2649 \cdot e^{-0,0158 t} - 7356,0704 \cdot e^{-0,3328 t} \mu\text{g/L}$

2.- La farmacocinética del metabolito activo de enrofloxacino, ciprofloxacino, se ajusta según un modelo monocompartimental, tanto tras la administración vía intravenosa como para la vía subcutánea, con las tres formulaciones.

3.- Los tiempos de vida media ( $t_{1/2\lambda_z}$ ) obtenidos para enrofloxacino para las diferentes vías de administración y formulaciones son: IV (10,44 h), SC (12,42 h), SC1 (19,97 h) y SC2 (48,31 h), siendo significativamente mayores los de las formulaciones retardadas. Algo similar ocurre con el MRT, que adquiere, respectivamente, los siguientes valores: 3,47 h (IV), 6,06 h (IM), 10,13 h (SC1) y 26,09 h (SC2). Claramente, la permanencia de enrofloxacino es mayor tras la administración subcutánea (SC2) que es, por tanto, la mejor forma de administración a fin de obtener concentraciones plasmáticas durante un mayor tiempo.

4.- La depuración plasmática de enrofloxacino en cabra medida por el aclaramiento corporal (Cl) adquiere un valor de  $0,24 \pm 0,06 \text{ L/kg}\cdot\text{h}$ , tras su administración intravenosa.

5.- Los valores del volumen de distribución aparente en función del área bajo la curva ( $V_z = 3,68 \pm 1,31 \text{ L/kg}$ ) y en el estado estacionario ( $V_{ss} = 0,79 \pm 0,24 \text{ L/kg}$ ) de

enrofloxacino tras la administración por vía intravenosa, indican que existe una buena distribución del fármaco y un buen acceso a los tejidos y fluidos en esta especie.

**6.-** Las constantes de absorción obtenidas para enrofloxacino han sido: formulación SC ( $0,46 \text{ h}^{-1}$ ), formulación SC1 ( $0,31 \text{ h}^{-1}$ ) y formulación SC2 ( $0,33 \text{ h}^{-1}$ ), siendo significativamente menores en las formulaciones retardadas, por lo que la absorción es significativamente más lenta.

**7.-** La semivida de formación del metabolito activo ( $t_{1/2kf}$ ), ciprofloxacino, para la formulación IV (0,15 h) es significativamente más rápida que la obtenida para todas las formulaciones administradas por vía subcutánea: SC (1,73 h), SC1 (2,58 h) y SC2 (1,68 h) ( $P < 0,05$ ).

**8.-** La concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), obtenida para enrofloxacino en la formulación SC2 en cabra, es de  $2037,22 \mu\text{g/L}$ , 1,4 veces inferior a la obtenida al administrar el enrofloxacino en la formulación SC1 ( $2935,74 \mu\text{g/L}$ ); si bien es superior a la  $C_{m\acute{a}x}$  alcanzada tras la administración SC ( $1908,41 \mu\text{g/L}$ ). Sin embargo, hay que tener en cuenta que la administración del enrofloxacino con las formulaciones retardadas (SC1 y SC2) se hizo a una dosis 3 veces superior a la formulación SC. Al comparar los valores de  $C_{m\acute{a}x}$ , a igualdad de dosis, se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos con la formulación SC y los de las formulaciones retardadas ( $P < 0,05$ ). Además, también existen diferencias estadísticamente significativas para el tiempo en que se alcanza dicha concentración máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ) entre la administración SC (2,43 h) y las formulaciones SC1 (4,03 h) y SC2 (4,34 h) ( $P < 0,05$ ).

**9.-** La biodisponibilidad (F) de enrofloxacino, tras su administración SC en cabra es del 71%. Valores inferiores de F resultan cuando se administra vía subcutánea en la formulación SC1 (55,81%) y en la SC2 (52,83%), existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los valores de F de la formulación SC y SC2 ( $P < 0,05$ ).

**10.-** Con los datos de CMI de enrofloxacino, determinados *in vitro* frente a cepas específicas de *Staphylococcus aureus*, y teniendo en cuenta los índices  $C_{\text{máx}}/\text{CMI}$  y  $\text{AUC}/\text{CMI}$ , se puede concluir que la administración una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino por vía subcutánea con las tres formulaciones (SC, SC1 y SC2) podría ser efectiva contra aislados bacterianos con  $\text{CMI} \leq 0,12 \mu\text{g/mL}$ . Sin embargo, al haber utilizado en las formulaciones SC1 y SC2 una dosis de 15 mg/kg, los resultados presentados pueden predecir el éxito clínico y prevenir la aparición de resistencias frente aislados bacterianos con  $\text{CMI} \leq 0,12 \mu\text{g/mL}$  e incluso con  $\text{CMI} \leq 0,25 \mu\text{g/mL}$ .

**11.-** La especialidad medicamentosa de partida, señala como régimen de dosificación una administración subcutánea cada 24 horas (dosis 2,5 mg/kg). Según los resultados obtenidos, la administración SC mantiene las concentraciones plasmáticas por encima de la CMI 12 horas, la formulación SC1 mantiene esas concentraciones hasta las 24 horas y, la formulación SC2, hasta las 32 horas. Por tanto, la utilización de las formulaciones propuestas permitiría, *a priori*, disminuir sensiblemente el número de administraciones. Si hacemos una similitud con la posología recomendada, la formulación SC1 podría administrarse cada 48 horas y la SC2 cada 72 horas.

**12.-** El enrofloxacino se elimina en leche en una pequeña proporción que varía según las diferentes formulaciones: IV (0,27%), SC (0,24%), SC1 (0,11%) y SC2 (0,13%). Valores algo superiores se obtienen para su metabolito, ciprofloxacino: IV (0,35%), SC (0,36%), SC1 (0,16%) y SC2 (0,16%). Así, la cantidad eliminada por leche de enrofloxacino y su metabolito, ciprofloxacino, es superior cuando se administra el enrofloxacino en la formulación IV y SC.

**13.-** Teniendo en cuenta el valor de MRT, se observa como la presencia del enrofloxacino en leche es más prolongada cuando se administra en la formulación SC2, pudiendo ser por tanto la formulación de elección a fin de obtener concentraciones del antibiótico en leche durante un mayor periodo de tiempo.



**14.-** Los valores de MRT del ciprofloxacino en leche nos permiten afirmar que dicho metabolito permanece en leche durante más tiempo que el enrofloxacino, excepto en el caso de la formulación SC2.

**15.-** El coste final del tratamiento debería ser inferior al tratamiento con la formulación convencional: SC 8x5 = 40 mg/kg (8 días de tratamiento); SC1 y SC2 2x15 = 30 mg/kg (9/11 días de tratamiento). Además esto supone la gran comodidad y ahorro a la hora de su administración.

## **7.- RESUMEN**

Se ha estudiado el comportamiento cinético de enrofloxacino y su metabolito activo, ciprofloxacino, en cabras tras la administración de enrofloxacino por las vías intravenosa y subcutánea a la dosis de 5 mg/kg, y tras la administración de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% por vía subcutánea a la dosis de 15 mg/kg, con el fin de establecer los parámetros farmacocinéticos en esta especie así como su penetración en leche.

La determinación de enrofloxacino y su metabolito, ciprofloxacino, en plasma se realizó mediante HPLC con detección fluorimétrica, siguiendo el método descrito por Siefert y cols. (1999). El ajuste a modelos farmacocinéticos compartimentales se realizó mediante los programas farmacocinéticos WinNonlin Professional® y MULTIFIT® (Proost, 1997). El criterio utilizado para determinar cuál era la ecuación que mejor describía la evolución de los datos experimentales en cada caso, fue el Criterio de Información de Akaike (AIC) (Yamaoka y cols., 1978). Para la determinación de los parámetros no compartimentales se utilizó el programa WinNonlin Professional®.

Tras la administración intravenosa, enrofloxacino se distribuye según un modelo bicompartimental abierto, al igual que para las vías extravasculares. En el caso del metabolito, ciprofloxacino se distribuyó según un modelo monocompartimental, tanto tras la administración de enrofloxacion vía intravenosa como por las vías extravasculares.

Tras la administración intravenosa, la vida media obtenida para el enrofloxacino ( $t_{1/2\lambda_z}$ ) fue de  $10,44 \pm 4,5$  h con un tiempo medio de residencia (MRT) de  $3,47 \pm 1,11$  h. Los volúmenes aparentes de distribución de enrofloxacino calculados en función del área bajo la curva ( $V_z$ ) y en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) resultaron ser de  $3,68 \pm 1,31$  L/kg y  $0,79 \pm 0,24$  L/kg respectivamente, indicando una amplia distribución orgánica. Por lo que respecta al aclaramiento plasmático (Cl), éste alcanzó un valor de  $0,24 \pm 0,06$  L/kg·h.

Por vía extravascular, cuando se administró el enrofloxacino vía subcutánea sin polímero, vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, se registraron los siguientes tiempos de vida media:  $12,42 \pm 4,67$ ,  $19,97 \pm 6,67$  y  $48,31 \pm 7,98$  h, respectivamente, con unos valores de MRT de  $6,06 \pm 1,30$ ,  $10,13 \pm 1,47$  y  $26,09 \pm 9,18$  h, respectivamente.

La biodisponibilidad de enrofloxacino cuando se administró por vía subcutánea sin polímero, alcanzó un valor de  $71 \pm 11,76$  %. Valores algo inferiores se obtuvieron cuando se administró el enrofloxacino vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, que fueron de  $55,81 \pm 11,41$  % y  $52,83 \pm 10,98$  %, respectivamente.

En cuanto al metabolito de enrofloxacino, tras la administración intravenosa de enrofloxacino la vida media de ciprofloxacino fue de  $2,49 \pm 0,30$  h con un valor de MRT de  $3,73 \pm 0,52$  h. El ratio de metabolito (MR) fue de  $9,16 \pm 2,17$ %.

Cuando se administró el enrofloxacino vía subcutánea sin polímero, vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, se registraron los siguientes tiempos de vida media para su metabolito ciprofloxacino:  $2,10 \pm 0,25$ ,  $6,11 \pm 2,76$  y  $8,25 \pm 3,27$  h, respectivamente, con unos valores de MRT de  $5,69 \pm 0,59$ ,  $13,08 \pm 4,51$  y  $15,34 \pm 4,61$  h, respectivamente. El ratio de metabolito fue de  $12,12 \pm 2,53$ %,  $16,75 \pm 9,89$ % y  $11,05 \pm 3,71$ %, respectivamente.

Se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias de enrofloxacino y su metabolito, ciprofloxacino, frente a cepas de *Staphylococcus aureus* a fin de determinar los índices farmacocinético-farmacodinámicos óptimos. De dicho estudio se puede concluir que una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino podría ser efectiva por vía subcutánea, al igual que una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino vía subcutánea cuando se administre junto con polímero P407 al 25% o junto con polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, en cabras contra aislados bacterianos con CMI  $\leq 0,12$   $\mu\text{g/mL}$  e incluso para CMI  $\leq 0,25$   $\mu\text{g/mL}$ .

La penetración en leche de enrofloxacino alcanzó unos ratios bajos, con unas relaciones  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}} < 1$ . Al contrario ocurre con su metabolito, ciprofloxacino, cuya penetración en leche alcanzó unas ratios muy elevados, con unas relaciones  $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}} > 6$ .

## **8.- SUMMARY**

The pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin was studied following intravenous and subcutaneous administration of single doses of 5 mg/kg to healthy goats, and as a long-acting poloxamer 407 gel formulation and poloxamer 407 + carboxymethylcellulose.

Plasma concentrations were determined by HPLC assay with fluorescence detection following the method described by Siefert et al. (1999). The fitting to compartmental pharmacokinetic models was carried out by using WinNonlin Professional® and MULTIFIT® (Proost, 1997) computers programmes. The Akaike's information criterion (AIC) (Yamaoka et al., 1978) was used to select the best equation that defines plasma concentration-time data for each animal. WinNonlin Professional® computer programme was used to obtain non-compartmental kinetic data.

The enrofloxacin plasma concentration versus time data after intravenous and extravascular administrations could best be described by a two compartment open model. In the case of the metabolite, ciprofloxacin, was fitted to a one-compartmental model after intravenous and extravascular administrations of enrofloxacin.

The enrofloxacin terminal half-life ( $t_{1/2\lambda_z}$ ) was  $10,44 \pm 4,5$  h after intravenous administration, with a mean residence time (MRT) of  $3,47 \pm 1,11$  h. The apparent volumes of distribution calculated by the area method ( $V_z$ ) and at steady-state ( $V_{ss}$ ) were  $3,68 \pm 1,31$  and  $0,79 \pm 0,24$  L/kg, respectively, indicating a wide body distribution. Total body clearance was  $0,24 \pm 0,06$  L/kg·h.

After extravascular administrations, terminal half-lives were  $12.42 \pm 4.67$ ,  $19.97 \pm 6.67$  and  $48.31 \pm 7.98$  h for enrofloxacin administration subcutaneously without poloxamer, with long-acting poloxamer 407 gel formulation and with poloxamer 407 + carboxymethylcellulose, respectively. MRT values obtained were  $5,69 \pm 0,59$ ,  $13,08 \pm 4,51$  and  $15,34 \pm 4,61$  h, respectively.

Absolute bioavailability was  $71 \pm 11.76\%$  after enrofloxacin subcutaneous administration. Somewhat lower values were obtained,  $55,81 \pm 11,41 \%$  and  $52,83 \pm 10,98 \%$ , after enrofloxacin administration subcutaneously with long-acting poloxamer 407 gel formulation and with poloxamer 407 + carboxymethylcellulose, respectively.

Half-life of ciprofloxacin after intravenous administration was  $2,49 \pm 0,30$  h with MRT of  $3,73 \pm 0,52$  h. The metabolite ratio (MR) was  $9.16 \pm 2.17\%$ .

When enrofloxacin was subcutaneously administered without poloxamer, with long-acting poloxamer 407 gel formulation and with poloxamer 407 + carboxymethylcellulose, the half-lives for its active metabolite was:  $2,10 \pm 0,25$ ,  $6,11 \pm 2,76$  and  $8,25 \pm 3,27$  h, respectively, with MRT values of  $5,69 \pm 0,59$ ,  $13,08 \pm 4,51$  and  $15,34 \pm 4,61$  h, respectively. The metabolite ratio was  $12,12 \pm 2,53\%$ ,  $16,75 \pm 9,89\%$  y  $11,05 \pm 3,71\%$ , respectively.

Minimal inhibitory concentrations (MIC) assays of enrofloxacin against different strains of *Staphylococcus aureus* were performed in order to compute pharmacodynamic surrogate markers. From this data, it is concluded that a 5 mg/kg dose of enrofloxacin would be effective by subcutaneous administration, just like a 15 mg/kg of enrofloxacin in solution of long-acting poloxamer 407 gel formulation and with poloxamer 407 + carboxymethylcellulose subcutaneous administration to goats against bacterial isolates with  $MIC \leq 0,12 \mu\text{g/mL}$  and even for  $MIC \leq 0,25 \mu\text{g/mL}$ .

Penetration of enrofloxacin in milk reached low ratios, showing relationships  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}} < 1$ . Unlike the case with its metabolite, ciprofloxacin, whose penetration into milk reached a very high ratios, showing relationships  $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}} > 6$ .

## **9.- BIBLIOGRAFÍA**



- AARESTRUP, F.M., NIELSEN, E.M., MADSEN, M., ENGBERG, J., 1997. Antimicrobial susceptibility patterns of thermophilic *Campylobacter spp.* from humans, pigs, cattle, and broilers in Denmark. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; 41 (10): 2244-50.
- AARESTRUP, F.M., JORSAL, S.E., JENSEN, N.E., 1998. Serological characterization and microbiological susceptibility of *Streptococcus suis* isolates from diagnostic samples in Denmark during 1995 and 1996. *Vet Microbiol.*; 60 (1): 59-66.
- AARESTRUP, F.M., FRIIS, N.F., 1998. Antimicrobial susceptibility testing of *Mycoplasma hyosynoviae* isolated from pigs during 1968 to 1971 and during 1995 and 1996. *Vet Microbiol.*; 61 (1-2): 33-39.
- ABD EL-ATY, A.M., Y GOUDAH, A., 2002. Some pharmacokinetic parameters of pefloxacin in lactating goats. *Veterinary Research Communications* 26, 553-61.
- ABD EL KADER, A., ZAKIA, Z., KHALID, B., 1995. Antibioresistance of *Escherichia coli* strains isolated in Morocco from chickens with colibacillosis. *Veterinary Microbiology*; 43 (4): 325-330.
- ABD EL AZIZ, M.I., AZIZ, M.A., SOLIMAN, F.A., AFIFY, N.A., 1997. Pharmacokinetics evaluation of enrofloxacin in chickens. *British Poultry Science.*; 38, (2): 164-168.
- ABO EL-SOUD, K.A., 2003. Influence of albendazole on the disposition kinetics and milk antimicrobial equivalent activity of enrofloxacin in lactating goats. *Pharmacological Research* 48: 389-395.
- ADAM, D., VON ROSENSTIEL, N., 1994. Adverse reactions to fluorquinolones, potential toxicities, drug interactions, and metabolic effects. *Infect Dis Clin Pract*; 3 (Suppl 3): S177-84.
- ADURIZ, J., ESCOBAL, I., SALAZAR, L.M., CONTRERAS, A., MARCO, J.C., 1996. Efficacy of enrofloxacin during the lactation against mastitis caused by *Mycoplasma bovis* in dairy cattle. *Proceedings of the XIX World Buiatrics Congress, Edinburgh, U.K., BCVA Publications.*
- AGEMED, 2006. Información técnica acerca de marbofloxacino, danofloxacino, enrofloxacino, flumequina y ácido oxolínico proporcionada por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios y expuesta en su página web. [www.aged.es](http://www.aged.es).

- ALIABADI, F.S., LEES, P., 2001. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of danofloxacin in serum and tissue fluids of goats following intravenous and intramuscular administration. *Am. J. Vet. Res.*, 62 (12): 1979-1989.
- ALIABADI, F.S., LEES, P., 2002. Pharmacokinetics and pharmacokinetic/pharmacodynamic integration of marbofloxacin in calf serum, exudate and transudate. *Journal of Veterinary Pharmacological Therapy* 25, 161–174.
- ALOS, J. I., 2003. Quinolones. *Enferm.Infecc.Microbiol.Clin.* 21:261-267.
- ALLON, M., LOPEZ, E.J., MIN, K.W., 1990. Acute renal failure due to ciprofloxacin. *Arch Intern Med*; 150:2187-9.
- ALTREUTHER, P., 1998. Data on chemistry and toxicology of Baytril®. *Veterinary Medicine Reviews*; 2: 87-89.
- AMINIMANIZANI, A., BERINGER, P., JELLIFFE, R., 2001. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of the newer fluorquinolone antibacterials. *Clinical Pharmacokinetics* 40, 169-187.
- ANADÓN, A., MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R., DÍAZ, M.J., BRINGAS, P., MARTÍNEZ, M.A., FERNANDEZ CRUZ, M.L., FERNANDEZ, M.C., FERNANDEZ, R., 1995. Pharmacokinetics and residues of enrofloxacin in chickens. *Am J of Vet Res.*; 56 (4): 501-506.
- ANADÓN, A., MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R., DÍAZ, FERNANDEZ CRUZ, M.L., M.J., MARTÍNEZ, M.A., FREJO M.G., MARTINEZ, M., ITURBE, J., TAFUR, M., 1999. Pharmacokinetics variables and tissue residues of enrofloxacin and ciprofloxacin in healthy pigs. *Am J of Vet Res.*; 60 (11): 1377-1382.
- ANDERSSON, M. I. Y MACGOWAN, A.P., 2003. Development of the quinolones. *J.Antimicrob.Chemother.* 51:1-11.
- ANDES, D. & CRAIG, W.A., 2002a. Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 19: 261-268.
- ANDES, D. & CRAIG, W.A., 2002b. Pharmacodynamics of the new fluoroquinolone gatifloxacin in murine thigh and lung infection models. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46, 1665–1670.
- ANDRIOLE, V.T., 1998. The quinolones prospects. In: Andriole, V.T. (Ed): *The Quinolones*. Academic Press, San Diego California, pp 417-29.

- APPELBAUM, P.C., 1995. Quinolone activity against anaerobes: microbiological aspects. *Drugs*;49(Suppl. 2):76–80.
- APPELBAUM, P.C., HUNTER, P.A., 2000. The fluorquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents* 16, 5-15.
- APPELBAUM, P. C., PANKUCH, G.A., BOZDOGAN, B., LIN, G., JACOBS, M.R., PATEL, M.V., GUPTE, S.V., JAFRI, M.A., DE SOUZA, N.J. Y KHORAKIWALA, H.F., 2005. Activity of the new quinolone WCK 771 against pneumococci. *Clin.Microbiol.Infect.* 11:9-14.
- ARAKI, H., OGAKE, N., MINAMI, S., WATANABE, Y., NARITA, H., TAMAI, I., TSUJI, A., 1997. Application of muscle microdialysis to evaluate the concentrations of the fluoroquinolones pazufloxacin and ofloxacin in the tissue interstitial fluids of rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 49, 1141–1144.
- ARAMAYONA, J.J., GARCIA, M.A., FRAILE, L.J., ABADFA, A.R., BREGANTE, M.A., 1994. Placental transfer of enrofloxacin and ciprofloxacin in rabbits. *Am. J. Vet. Res.*, 55, 1313–1318.
- ARAMAYONA, J.J., MORA, J., FRAILE, L.J., GARCÍA, M.A., ABADÍA, A.R., BREGANTE, M.A., 1996. Penetration of enrofloxacin and ciprofloxacin into breast milk, and pharmacokinetics of the drugs in lactating rabbits and neonatal offspring. *American Journal Veterinary Research.*; 57 (4): 547-553.
- ATEF, M., EL-BANNA, HA., ABD EL-ATY, AM., GOUDAH, A., 2002. Pharmacokinetics of difloxacin in gotas. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 109: 320-323.
- ATKINSON, A.J.Jr. & KUSHNER, W., 1979: *Clinical Pharmacokinetics*. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 19: 105-127.
- ATKINSON, H y BEGG, E., 1990. Prediction of drug distribution into human milk from physicochemical characteristics. *Clin. Pharmacokinet.*, 18: 151-167.
- AZANZA, J.R., SÁDABA, B., MEDIAVILLA, A. & FLÓREZ, J., 2003: Quinolonas. Sulfamidas. Trimetoprima. Cotrimoxazol. Nitrofurantoína. Antisépticos. En: *Farmacología humana*. 4º ed. Ed: Flórez J. Masson, S.A. Barcelona. pp: 1169-1186.

- BABISH, J., WILDER, J., DAVIDSON, J. Y COLS., 1990. The comparative pharmacokinetics of a new quinolone, enrofloxacin in dogs, horses, calves, chickens and turkeys. *J Vet Pharmacol Ther.*
- BAHK, J.Y., HYUN, J. LEE, J., KIM, Y., CHO, J., LEE, J., PARK, M., 2000. Concentration of ofloxacin in canine tissue and prostate: fluid after intraprostatic injection of biodegradable sustained-releasing microspheres. *Journal of Urology* 163 (5): 1560-1564.
- BALL, P., 1986. Ciprofloxacin: an overview of adverse experiments. *J Antimicrob Chemother* 18 (Suppl. D); 187-193.
- BALL, P., TILLOTSON, G., 1995. Tolerability of fluorquinolone anti-biotics: past, present and future. *Drug Saf*; 13: 343-58.
- BALL, P., 2000. Quinolone generations: natural history or natural selection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 46 (Suppl T1), 17-24.
- BANHOLZER, E., HEINRITZI, K., STEINHAUSEN, G., SCHEER, M., PEDERSEN MÖRNER., 1997. Pharmacokinetics of enrofloxacin in slaughter pigs following different routes of administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1), p. 48.
- BARRY, A.L., FUCHS, P.C., BROWN, S.D., 2001. In vitro activities of three nonfluorinated quinolones against representatives bacterial isolates. *Antimicrob Agents Chemother*; 45: 1923-1927.
- BARUAH, H., ROY, DC., ROY, RK., KHONIKOR, HN., 2004. Pharmacokinetics, tissue residue and plasma protein binding of ofloxacin in goats. *J. Vet. Sci.* 5 (2): 97-101.
- BAUDITZ, R., 1987. Results of clinical studies with Baytril® in calves and pigs. *Veterinary Medicine Reviews*; 2: 122-129.
- BAUDITZ, R., 1987b. Results of clinical studies with Baytril® in dogs and cats. *Veterinary Medicine Reviews*, 2, 137- 140.
- BAUER, T. M., FOLLO, A., NAVASA, M., VILA, J., PLANAS, R., CLEMENTE, G., VARGAS, V., BORY, F., VAQUER, P. Y RODES, J., 2002. Daily norfloxacin is more effective than weekly rifloxacin in prevention of spontaneous bacterial peritonitis recurrence. *Dig.Dis.Sci.* 47:1356-1361.

- BAUERNFEIND, A., 1997. Comparison of the antibacterial activities of the quinolones Bay 12-8039, gatifloxacin (AM 1155), trovafloxacin, clinafloxacin, levofloxacin and ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother*; 40:639–51.
- BEBEAR, C.M., RENAUDIN, H., CHARRON, A., CLERC, M., PEREYRE, S., BEBEAR, C., 2003. DNA gyrase and topoisomerase IV mutations in clinical isolates of *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma hominis* resistant to fluoroquinolones. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47, 3323–3325.
- BERGOGNE-BEREZIN, E., 2002. Clinical role of protein binding of quinolones. *Clinical Pharmacokinetics* 41, 741–750.
- BERMINGHAM, EC., AND PAPICH, MG., SALLY L. VIVRETTE, MS., 2000. *American Journal of Veterinary Research.*; 61: 706-709.
- BERMINGHAM, EC., AND PAPICH, MG., 2002. Pharmacokinetics after intravenous and oral administration of enrofloxacin in sheep. *American Journal of Veterinary Research.*; 63 (7): 1012-1017.
- BERTINO, J.R., FISH, D., 2000. The safety profile of the fluorquinolones. *Clinical Pharmacokinetics* 41, 741-750.
- BIGGER, J.W., 1944. Pie bactericidal action of penicillin on *Stanhvlococcus pyogenes*. *J. Med. Sci.*, 227: 533-568.
- BLONDEAU, J.M., 2004. Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Surv.Ophthalmol.* 49 Suppl 2:S73-S78.
- BOUTHIER, D.L.T., PORTEMER, C., HUBER, R., FORTERRE, P. Y DUGUET, M., 1991. Reverse gyrase in thermophilic eubacteria. *J.Bacteriol.* 173:3921-3923.
- BREGANTE, M.A., ABADÍA, A.R., MORA, J., ARAMAYONA, J.J., GARCIA, M.A., FRAILE, L., 1994. Milk transfer of enrofloxacin and ciprofloxacin in the rabbit. In: *Proceedings of the Sixth Congress of the European Associassion for Veterinary Pharmacology and Toxicology.* Edinburgh, Scotland. 231–232.
- BREITSCHWERDT, E.B, DAVIDSON, M.G, AUCOIN, D.P, LEVY, M.G, SZABADOS, N.S, HEGARTY, B.C, KUEHNE, A.L, JAMES, R.L., 1991. Efficacy of chloramphenicol, enrofloxacin, and tetracycline for treatment of experimental Rocky Mountain spotted fever in dogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*; 35 (11):2375-81.

- BRENWALD, N.P., GILL, M.J., WISE, R., 1998. Prevalence of a putative efflux mechanism among fluoroquinolone-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*; 42: 2032-2035.
- BRIGHTY, K.E, GOOTZ, T.D., 1997. The chemistry and biological profile of trovafloxacin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*; 39 (Suppl. B): 1-14.
- BRISSE, S., MILATOVIC, D., FLUIT, A.C. Y COLS., 1999. Comparative in vitro activities of ciprofloxacin, clinafloxacin, gatifloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, and trovafloxacin against *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, and *Enterobacter aerogenes* clinical isolates with alterations in GyrA and ParC proteins. *Antimicrob Agents Chemother*;43:2051-5.
- BROOME, R.L., BROOKS, D.L., BABISH, J.G., COPELAND, D.D., CONZELMAN, G.M., 1991. Pharmacokinetic properties of enrofloxacin in rabbits. *American Journal of Veterinary Research.*; 52, (11): 1835-1841.
- BROWN, S.A., 1996. Fluorquinolones in animal health. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*; 19 1-14.
- BRYSKER, P., CHANTOT, J.F., 1995. Classification and structure-activity relationships of fluorquinolones. *Drug*; 49 (Suppl. 2): 16-28.
- GUPTA, P.K., JOHNSON, H., ALLEXON, C., 1993. In vitro and in vivo evaluation of claritromycin PLA microspheres for intramuscular drug delivery. *Journal of Controlled Release* 26 (3): 229-238.
- BURGMANN, P., 2000. Antimicrobial Drug Use in Rodents, Rabbits, and Ferrets. En: *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 3ª ed. Ed: Prescott JF, Baggot JD y Walker RD, Blackwell Scientific Publications. Iowa. Pág: 674-675.
- BUTAYE, P., DUCATELLE, R., DE BACKER, P., VERMEERSCH, H., REMON, J., HAESEBROUCK, F., 1997. In vitro activities of doxycycline and enrofloxacin against European *Chlamydia psittacci* from turkeys. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*; 41 (12):2800-2801.
- BUTTS, J.D., 1994. Intracellular concentrations of antibacterial agents and related clinical implications. *Clinical Pharmacokinetics* 27, 63-84.
- CABANES, A., ARBOIX, M., GARCÍA ANTON, J.M., REIG, F., 1992. Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular injection in rabbits. *American Journal of Veterinary Research.*; 53 (11): 2090-2093.

- CÁRCELES, CM., SERRANO, JM., MARÍN, P., ESCUDERO, E. Y FERNÁNDEZ-VARÓN, E., 2006. Pharmacokinetics of moxifloxacin in rabbits after intravenous, subcutaneous and a long-acting poloxamer 407 gel formulation administration. *J. Vet. Med*, 53, 300-304.
- CARRETERO, M., RODRIGUEZ, C., SAN ANDRES, M.I., FORES, P., DE LUCAS, J.J., NIETO, J., SAN ANDRES, M.D., GONZALEZ, F., 2002. Pharmacokinetics of marbofloxacin in mature horses after single intravenous and intramuscular administration. *Equine Veterinary Journal* 34, 360–365.
- CATARSINI, O., BALBO, S.M., PUGLIESE, A., PRATO, F., 1995. Experiences with Baytril® in sheep. *Veterinary Medicine Reviews*; 61: 10-12.
- CECCHETTI, V., FRAVOLINI, A., LORENZINI, M.C., TABARRINI, O., TERNI, P., XIN, T., 1996. Studies on 6-aminoquinolones: Synthesis and antibacterial evaluation of 6-amino-8-methylquinolones. *J Med Chem*; 39: 436-445.
- CESTER, C.C., SCHNEIDER, M., TOUTAIN, P.L., 1996. Comparative kinetics of two orally administered fluoroquinolones in dog: Enrofloxacin versus Marbofloxacin. *Revue de Medecine Veterinaire*; 147 (10): 703-716.
- CESTER, C.C., TOUTAIN, P.L., 1997. A comprehensive model for enrofloxacin and ciprofloxacin transformation and disposition in dog. *Journal of Pharmacol. Sciences.*; 86 (10):1148-1155.
- CHEN, C.R., MALIK, M., SNYDER, M., DRLICA, K., 1996. DNA gyrase and topoisomerase IV on the bacterial chromosome: Quinolone-induced DNA cleavage. *J Mol Biol*; 258: 627-637.
- CHEN, D.K., MCGEER, A., DE AZAEVEDO, J.C., LOW, D.E., 1999. Decreased susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in Canada. Canadian bacterial surveillance network. *New Engl J Med*;341:233–9.
- CHIN, N.X., NEU, H.C., 1987. Postantibiotic suppressive effect of ciprofloxacin against Gram positive and Gram negative bacteria. *Am. J. Med.* 82 (Suppl. 4A): 58-62.
- CHRIST, W., 1990. Central nervous system toxicity of quinolones: human and animal findings. *J Antimicrob Chemother*; 26(Suppl B): 219-25.
- CHRIST, W., ESCH, B., 1994. Adverse reactions to fluorquinolones in adults and children. *Infect Dis Clin Pract*; 3 (Suppl. 3):S168-76.

- CHU, D.T. Y FERNANDES, P.B., 1989. Structure-activity relationships of the fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33:131-135.
- COHEN, S.P., MCMURRY, L.M., LEVY, S.B., 1988. *marA* locus causes decreased expression of OmpF porin in multiple-antibiotic resistant (Mar) mutants of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*; 170: 5416-5422.
- COHEN, S.P., McMURRY, L.M., HOOPER, D.C., WOLFSON, J.S. & LEVY S.B., 1989. Cross-resistance to fluoroquinolones in multiple-antibiotic-resistant (Mar) *Escherichia coli* selected by tetracycline or chloramphenicol: decreased drug accumulation associated with membrane changes in addition to OmpF reduction. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 33 (8): 1318-1325.
- CONZELMAN, GM., MCMILLAN, RA., BAGGOT, JD., 1987. Pharmacokinetics of 1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-3-quinoline-carboxylic acid (BAYVp2674) in chickens. *Proc West Pharmacol Soc*, 30: 393-395.
- CORMICAN, M.G., JONES, RN., 1997. Antimicrobial activity and spectrum of LB20304, a novel fluoronaphthyridone. *Antimicrob Agents Chemother*;41:204–11.
- CORRALES, JC., CONTRERAS, A., SÁNCHEZ, A., LUENGO, C., MARCO, JC., 1997. Etiología y diagnóstico microbiológico de las mamitis caprinas. En: *Mamitis caprina*. *Ovis*, 53: 33-66.
- COSTERTON, J.W., STEWART, P.S., GREENBERG, E.P., 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284, 1318–1322.
- COULET, M., MORELLO, C., COX, P., LOHUIS, J., 2005. Pharmacokinetics of ibafloxacin in healthy cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 28, 37–44.
- COX, S.K., COTTRELL, M.B., SMITH, L., PAPICH, M.G., FRAZIER, D.L., BARTGES, J., 2004. Allometric analysis of ciprofloxacin and enrofloxacin pharmacokinetics across species. *Journal of Veterinary Pharmacological and Therapeutics* 27, 139–146.
- CRAIG, W.A., GUDMUNDSSON, S., 1991. The postantibiotic effect. pp: 403-431. En *Lorian 1'.* (ed.). *Antibiotics in laboratory medicine*. 3th Ed., Williams and Wilkins, Baltimore.



- CRAIG, W.A., DALHOFF, A., 1998. Pharmacodynamics of fluoroquinolones in experimental animals. In: Born, G.V.R., Cuatrecas, P., Ganten, D., Herken, H., Melmon, K.L., Starke, K. (Eds.), Handbook of Experimental Pharmacology. Springer, Berlin, pp. 208–232.
- CRAIG, W.A., 1998. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical Infectious Diseases* 26, 1–10.
- CULLEN, M.E., WYKE, A.W., KURODA, R. Y FISHER, L.M., 1989. Cloning and characterization of a DNA gyrase A gene from *Escherichia coli* that confers clinical resistance to 4-quinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33:886-894.
- CURTIS, L.H., OSTBYE, T., SENDERSKY, V., HUTCHISON, S., ALLEN LAPOINTE, N.M., AL KHATIB, S.M., USDIN, Y.S., DANS, P.E., WRIGHT, A., CALIFF, R.M., WOOSLEY, R.L., SCHULMAN, K.A., 2003. Prescription of QT-prolonging drugs in a cohort of about 5 million outpatients. *American Journal of Medicine* 114, 135–141.
- DAJCS, J.J., THIBODEAUX, B.A., MARQUART, M.E., GIRGIS, D.O., TRAIDEJ, M. & O'CALLAGHAN R.J., 2004: Effectiveness of ciprofloxacin, levofloxacin, or moxifloxacin for treatment of experimental *Staphylococcus aureus* keratitis. *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 48(6): 1948-1952.
- DALHOFF, A., ULLMANN, U., 1990. Correlation between pharmacokinetics, pharmacodynamics and efficacy of antibacterial agents in animal models. *Eur. J. Clin. Microbiol. infect. Dis.*, 9: 79-487.
- DÁMASO, D., 1990. Antibacterianos. Ed. Marketing Pharm, S.A. Madrid. Pág: 13-17 y 533-584.
- DAUTREY, S., FELICE, K., PETIET, A., LACOUR, B., CARBON, C., FARINOTTI, R., 1999. Active intestinal elimination of ciprofloxacin in rats: modulation by different substrates. *British Journal of Pharmacology* 127, 1728–1734.
- DAVIDSON, JN., CONZELMAN, GM., BAGGOT, JD., 1986. Pharmacokinetics of 1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-3-quinoline-carboxylic acid (CFPQ) in preruminant and ruminant calves. *Proc West Pharmacol Soc*, 29: 129-132.

- DAVIDSON, R., CAVALCANTI, R., BRUNTON, J.L., BAST, D.J., DE AZAVEDO, J.C., KIBSEY, P., FLEMING, P.C. Y LOW, D.C., 2002. Resistance to levofloxacin and failure of treatment of pneumococcal pneumonia. *N.Engl.J.Med.* 346:747-750.
- DAVIES, T.A., HOELLMAN, D., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1999. Activity of gemifloxacin (SB-265805) compared with other quinolones against quinolone-resistant *Haemophilus influenzae*. In: Proceedings of 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, Poster 1499.
- DAVIS, R., MARKHAM, A., BALFOUR, J.A., 1996. Ciprofloxacin: na updated review of its pharmacology, therapeutic efficacy and tolerability. *Durgs*; 51: 1019-74.
- DAVIS, J.L., FOSTER, D.M., PAPICH, M.G., 2007. Pharmacokinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its active metabolite ciprofloxacin in calves. *J. Vet. Pharmacol.Therap.* 30: 564-571.
- DE LUCAS, J.J., SAN ANDRÉS, M.I., GONZÁLEZ, F., FROYMAN, R., RODRÍGUEZ, C., 2008. Pharmacokinetic behaviour of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after subcutaneous administration in cattle. *Vet. Res. Commun.* 32: 275-279.
- DEFORGES, L., FOURNET, M.P., SOUSSY, C.J., DUVAL, J., 1986. Antibacterial activity in vitro of 10 quinolones against 20 strains of *Legionella pneumophila*. *Pathol Biol (Paris)*;34:631-3.
- DEGUCHI, T., YASUDA, M., KAWAMURA, T. Y COLS. 1997. Improved antimicrobial activity of DU-6859a, a new fluoroquinolone, against quinolone-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* isolates with alterations in GyrA and ParC proteins. *Antimicrob Agents Chemother*;41:2544-6.
- DELAPORTE, J., FROYMAN, R., GANIERE, J.P., FLORENT, J., 1994. Distribution of enrofloxacin within hatching eggs during drinking water treatment with Baytril 10 % oral solution in breeder turkeys [poster communications]. Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology. Session 9: Anti-microbials and Chemotherapeutics, Edinburgh, Scotland.; p. 235-236.
- DEZIEL, M.R., LOUIS, A., HEINE, H., BUSH, K., KAO, M., KELLEY, M., DRUSANO, G.L., 2001. Evaluation of levofloxacin in a hollow fiber infection

- model against *Bacillus anthracis* utilizing both human and Rhesus Monkey pharmacokinetic profiles. Abstracts of the 41<sup>st</sup> Annual Meeting of the Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Abstract # A-1157, Chicago, IL.
- DOMAGALA, J.M., 1994: Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. *J. Antimicrob. Chemothe*; 33: 685-706.
- DOMÉNECH BERROZPE, J., MARTÍNEZ LANAO, J., PLÁ DELFINA, J.M., 1997. *Biofarmacia y Farmacocinética*. Ed. Síntesis S.A., Madrid. Volumen 1. Páginas: 35, 94-95 y 278.
- DORFMAN, M., BARSANTI, J., BUDSBERG, SC, 1995. Enrofloxacin concentrations in dogs with normal prostate and dogs with chronic bacterial prostatitis. *American Journal of Veterinary Research*.; 56 (3): 386-390.
- DOWLING, P.M., WILSON, R.C., TYLER, J.W., DURAN, S.H., 1995. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in ponies. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*.; 18: 7-12.
- DRLICA, K. & ZHAO, X., 1997. DNA gyrase, topoisomerase IV and the 4-quinolones. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 61, 377-92.
- DRLICA, K., 1999. Mechanism of fluoroquinolone action. *Curr.Opin.Microbiol.* 2:504-508.
- DRUSANO, G.L., JOHNSON, D.E., ROSEN, M., STANDIFORD, H.C., 1993. Pharmacodynamics of a fluoroquinolone antimicrobial agent in a neutropenic rat model of *Pseudomonas sepsis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 37, 483–490.
- DRUSANO, G.L., 2002. Pharmacodynamics of fluoroquinolones. In: *Proceedings of the 10th ISAP Symposium: Pharmacokinetics and Pharmacodynamics (PK/PD): Towards Definitive Criteria*. Milan, Italy, April 27–28.
- DUBOIS, J., ST-PIERRE, C., 1999. In vitro activity of gatifloxacin, compared with ciprofloxacin, clarithromycin, erythromycin, and rifampin against *Legionella spp.* *Diagn Microbiol Infect Dis*;33:261–5.
- DUVAL, J.M., BUDSBERG, SC, 1995. Cortical bone concentrations of enrofloxacin in dogs. *American Journal of Veterinary Research*.; 56 (2): 188-192.

- EAGLE, U., 1949. Pie recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin. *J. Clin. Invest.*, 28: 832-836.
- EAGLE, U., MUSSELMAN, A.D., 1949. Pie slow recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin. *J. Bacteriol.*, 58: 475-490.
- EDNIE, L.M., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1997. Comparative activities of clinafloxacin against gram-positive and -negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.*;42:1269-73.
- EDNIE, L.M., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1998. Activities of gatifloxacin compared to those of seven other agents against anaerobic organisms. *Antimicrob Agents Chemother.*;42:2459-62. *American Journal of Veterinary Research*, 63 (7): 1012-1017.
- EL-BANNA, HA. Y ABO-EL-SOUD, K., 1998. Disposition kinetics of ciprofloxacin in lactating goats. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 105: 35-38.
- EMA, 2006. Información técnica acerca de difloxacino, ibafloxacino, sarafloxacino, enrofloxacino y flumequina, proporcionada por la Agencia Europea del Medicamento y expuesta en su página web. [www.emea.eu.int](http://www.emea.eu.int)
- EMMERSON, A.M. & JONES, A.M., 2003. The quinolones: decades of development and use. *J. Antimicrob. Chemother.* 51(S1): 13-20.
- ENSINK, J.M., VAN KLINGEREN, B., HOUWERS, DJ, KLEIN, WR, VULTO, AG., 1993. In-vitro susceptibility to antimicrobial drugs of bacterial isolates from horses in The Netherlands. *Equine Vet J*, 25: 309-313.
- ESCUADERO, E., ESPUNY, A., VICENTE, S., CÁRCELES, CM., 1999. Pharmacokinetics of an ampicillim-sulfactam combination after intravenous and intramuscular administration to sheep. *Canadian Journal of Veterinary Research* 63 (1), 25-30.
- ESCUADERO, E., CÁRCELES, CM., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., MARÍN, P., BENCHAOUI, H., 2007. Pharmacokinetics of danofloxacin 18% in lactating sheep and goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 30: 572-577.
- ESPOSITO, S., GALANTE, D., BARBA, D., GIUSTI, R., BIANCHI, W., GAGLIARDI, R., 1988. Efficacy and safety of ciprofloxacin in the treatment of UTIs and RTIs in patients affected by liver diseases. *Infection*, 16 (suppl. 1): 57-61.

- EVERETT, M.J., JIN, Y.F., RICCI, V., PIDDOCK, L.J., 1996. Contributions of individual mechanisms to fluoroquinolone resistance in 36 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40, 2380–2386.
- FANG, W. Y PYÖRÄLÄ S., 2006. Mastitis-causing *Escherichia Coli*: serum sensitivity and susceptibility to selected antimicrobials in milk. *Journal of Dairy Science* 79 (1),pp. 76-82.
- FELMINGHAM, D., O'HARE, M.D., ROBBINS, M.J. Y COLS., 1985. Comparative in vitro studies with 4-quinolone antimicrobials. *Drugs Exp Clin Res*;11:317–29.
- FELMINGHAM, D., ROBBINS, M.J., LEAKEY, A. Y COLS., 1999. In vitro activity of moxifloxacin (BAY 12-8039), a novel 8-methoxyquinolone, compared with ofloxacin and other antibiotics. In: Adam D, Finch R, Hunter P, editors. *Moxifloxacin in Practice*, vol. 2. Oxford: Maxim Medical,:27–37.
- FERNANDES, P.B., 1988. Mode of action, and in vitro and in vivo activities of the fluorquinolones. *J Clin Pharmacol*; 28: 156-68.
- FERNÁNDEZ-VARÓN, E., VILLAMAYOR, L., ESCUDERON, E., ESPUNY, A., CÁRCELES, C.M., 2006a. Pharmacokinetics and milk penetration of moxifloxacin after intravenous and subcutaneous administration to lactating goats. *The Veterinary Journal* 172, 302-7.
- FERNÁNDEZ-VARÓN, E., AYALA, I., MARÍN, P., CARRIÓN, A., MARTOS, N., ESCUDERO, E., CÁRCELES, CM., 2006b. Pharmacokinetics of danofloxacin in horses after intravenous, intramuscular and intragastric administration. *Equine Veterinary Journal* 38 (4), 342-346.
- FERNÁNDEZ-VARÓN, E., CÁRCELES, CM., MARÍN, P., MARTOS, N., ESCUDERO, E., AYALA, I., 2006c. Pharmacokinetics of difloxacin after intravenous, intramuscular, and intragastric administration to horses. *American Journal of Veterinary Research* 66 (6): 1076-1081.
- FERNÁNDEZ-VARÓN, E., MARÍN, P., ESCUDERON, E., VANCRAEYNEST, D., CÁRCELES, C.M., 2007d. Pharmacokinetics-pharmacodynamic integration of danofloxacin after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration to rabbits. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 30, 18-24.
- FICHA TÉCNICA, ROXACIN<sup>®</sup>. Última actualización. Mayo de 2008.

- FINK, M.P., SNYDMAN, D.R., NIEDERMAN, M.S. Y COLS., 1994. Treatment of severe pneumonia in hospitalized patients: results of a multicenter, randomized, double-blind trial comparing intravenous ciprofloxacin with imipenem-cilastatin. *Antimicrob Agents Chemother*; 38: 547-57.
- FISH, D.N., 2001. Fluoroquinolone adverse effects and drug interactions. *Pharmacotherapy*, 21(10 Pt 2): 253S-272S.
- FORREST, A., NIX, D.E., BALLOW, C.H., GOSS, T.F., BIRMINGHAM, M.C., SCHENTAG, J.J., 1993. Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 37, 1073–1081.
- FORREST, A., CHODOSH, S., AMANTEA, M.A., COLLINS, D.A., SCHENTAG, J.J., 1997. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral grepafloxacin in patients with acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 40 (Suppl A), 45–57.
- FROYMAN, R., SCHEER, M., DE JONG, A., 1994. Serum kinetics of enrofloxacin in Pekin ducks during drinking-water medication with Baytril 10 % oral solution [Poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology. Session 9: Antimicrobials and Chemotherapeutics*, Edinburgh, Scotland.; p. 236.
- FUNG-TOMC, J., GRADELSKI, E., BONNER, D., 1999. Killing rates of streptococci and related organisms by fluoroquinolones. In: *Proceedings of 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, San Francisco, CA.; Poster 2329.
- FURET, Y.X., PECHERE, J.C., 1991. Newly documented antimicrobial activity of quinolones. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 10: 249-54.
- GANDOLF, RA., PAPCH, MG., BRINGARDNER, AB., ATKINSON, MW., 2005. Pharmacokinetics after intravenous, subcutaneous and oral administration of enrofloxacin to alpacas. *American Journal of Veterinary Research* 66 (5): 767-771.
- GANDOLF, RA., PAPCH, MG., BRINGARDNER, AB., ATKINSON, MW., 2006. Single-dose intravenous and oral pharmacokinetics of enrofloxacin in goral (*Nemorhaedus goral arnouxianus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 37 (2): 145-150.

- GANIÈRE, J.P., PEDERSEN MÖRNER, A., DE JONG, A., MONLOUIS, J.D., RICHEZ, P., 1997. Tissue distribution of intramuscularly administered enrofloxacin and danofloxacin in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1): 145-146.
- GANIÈRE, J.P., HERVOUET, P., DELAPORTE, J., FROYMAN, R., 1997b. Serum kinetics of enrofloxacin in chickens during continuous drinking water medication. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl.1): 202-203.
- GARCÍA, OH., ERRECALDE, C., PRIETO, G., LUDERS, C., PUELLES, I., BERECOCHEA, C., FERNANDEZ, M., 1996. Pharmacokinetics of enrofloxacin in calves. *Archivos De Medicina Veterinaria*, 28: 107-111.
- GARCÍA-RODRÍQUEZ, J.A. Y MUÑOZ-BELLIDO, J.L., 2003. ¿Qué nuevas quinolonas podemos esperar?. *Symposium 3. Rev. Española de Quimioterapia*. Vol. 16 (Sup. 1).
- GARGALLO-VIOLA, D., ESTEVE, M., LLOVERA, S. Y COLS., 1991. In Vitro and in vivo antibacterial activities of E-4497, a new 3-amine-3-methyl-azetidiny tricyclic fluorquinolone. *Antimicrob Agents Chemother*; 35: 442-7.
- GEHRING, R. Y SMITH, G.W., 2006. An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparation used to treat bovine mastitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 29 (4),pp. 237-241.
- GELLERT, M., MIZUUCHI, K., O'DEA, M.H. Y NASH, H.A., 1976. DNA gyrase: an enzyme that introduces superhelical turns into DNA. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 73:3872-3876.
- GIBALDI, M. & PERRIER, P., 1982. *Pharmacokinetics* 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker. New York.
- GIGUÈRE, S., SWEENEY, R.W., BÉLANGER, M., 1996. Pharmacokinetics of enrofloxacin in adult horses and concentration of the drug in serum, body fluids, and endometrial tissues after repeated intragastrically administered doses. *Am J of Vet Res.*; 57 (7): 1025-1030.
- GIGUÈRE, S., BÉLANGER, M., 1997. Concentration of enrofloxacin in equine tissues after long term oral administration [short communications]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20: 402-404.

- GIRAUD, E., CLOECKAERT, A., KERBOEUF, D. & CHASLUS-DANCLA, E., 2000. Evidence for active efflux as the primary mechanism of resistance to ciprofloxacin in *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. *Antimicrob Agents Chemother* 44, 1223–1228.
- GOBERNADO, M. Y SANTOS, M., 1988. Fluorquinolonas: estructura, actividad in vitro, mecanismo de acción y resistencia. *Medicine.*, pág. 33-40.
- GOBERNADO, M., 2001. Farmacocinética y farmacodinamia de las fluoroquinolonas. Relación con la actividad y la selección de mutantes resistentes. *Med. Clin.*, 2(2): 21-28.
- GOBERNADO, M. & SANTOS, M., 2002. Quinolonas En: Tratamiento antimicrobiano. 3º ed. Ed: Drobnic L.Ergon. Madrid. Pág: 323- 348.
- GOLDSTEIN, E.J.C., CITRON, D.M., WARREN, Y., TYRRELL, K., MERRIAM, C.V., 1999. In vitro activity of gemifloxacin (SB 265805) against anaerobes. *Antimicrob Agents Chemother*;43:2231–5.
- GOOTZ, T.D., BARRETT, J.F., SUTCLIFFE, J.A., 1990. Inhibitory effects of quinolone antibacterial agents on eukaryotic topoisomerases and related test systems. *Antimicrob Agents Chemother*; 34: 8-12.
- GOOTZ, T.D. & BRIGHTY, K.E., 1996. Fluorquinolone antibacterials: SAR mechanism of action, resistance and clinical aspects. *Medicinal Research Reviews* 16, 433-486.
- GOOTZ, T.D., BRIGHTY, K.E., 1998. Chemistry and mechanism of action of the quinolone antibacterials. In: Andriole, V.T. (Ed): *The quinolones*. Academic Press, San Diego, California, pp 29-80.
- GORLA, N., GARCÍA OVANDO, H., LARRIPA, I., 1999. Chromosomal aberrations in human lymphocytes exposed in vitro to enrofloxacin and ciprofloxacin. *Toxicol Lett.*; 104 (1-2): 43-48.
- GREENE, C.E., BUDSBERG, SC, 1993. Veterinary use of quinolones. In: Hooper, D.C., Wolfson, J.S. (Eds.), *Quinolone Antimicrobial Agents*. American Society for Microbiology, Washington, DC, pp. 473–488.



- GRIFFITHS, N.M., HIRST, B.H., SIMMONS, N.L., 1994. Active intestinal secretion of the fluoroquinolone antibacterials ciprofloxacin, norfloxacin and pefloxacin; a common secretory pathway? *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 269, 496–502.
- GUINEA, J., GARGALLO-VIOLA, D., ROBERT, M. Y COLS., 1995. E-4695, a new C-7 azetidiny fluoronaphthyridine with enhanced activity against gram positive and anaerobic pathogens. *Antimicrob Agents Chemother*; 39: 413-21.
- GUTHRIE, R.M., JACOBS, M., LOW, D.E., MANDELL, L., SLAMA, T., 2004. Treating resistant respiratory infections in the primary care setting: the role of the new quinolones. *University of Cincinnati College of Medicine Continuing Medical Education*.
- GUTIÉRREZ-ZUFIAURRE, N., 2004. Relación entre estructura, actividad y efectos adversos de las quinolonas. *Rev Esp Quimioterpa*. Septiembre. Vol. 17 (Nº 3): 232-243.
- GYRD-HANSEN, N., NIELSEN, P., 1994. The influence of feed on the oral bioavailability of enrofloxacin, oxytetracycline, penicillin V and spiramycin in pigs [poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology, Edinburgh, Scotland*.;p.242-243.
- HAINES, GR., BROWN, MP., GRONWALL, RR., MERRITT, KA., 2000. Serum concentrations and pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and itragastric administration to mares. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 64: 171-177.
- HATA, M., SUZUKI, M., MATSUMOTO, M., TAKAHASHI, M., SATO, K., IBE, S. Y SAKAE, K., 2005. Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b. *Antimicrob.Agents Chemother*. 49:801-803.
- HAYEM, G., CARBON, C., 1995. A reappraisal of quinolone tolerability: the experience of their musculoskeletal adverse effects. *Drug Saf*; 13: 338-42.
- HAWKINS, E.C., BOOTHE, D.M., GUINN, A., AUCOIN, D.P., NGYUEN, J., 1998. Concentration of enrofloxacin and its active metabolite in alveolar macrophages

- and pulmonary epithelial lining fluid of dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 21, 18-23.
- HEDDLE, J.G., BARNARD, F.M., WENTZELL, L.M. Y MAXWELL, A., 2000. The interaction of drugs with DNA gyrase: a model for the molecular basis of quinolone action. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* 19:1249-1264.
- HEESSEN, F.W., MUYTJENS, H.L., 1984. In vitro activities of ciprofloxacin, norfloxacin, pipemidic acid, cinoxacin, and nalidixic acid against *Chlamydia trachomatis*. *Antimicrob Agents Chemother*;25:123-4.
- HEINEN, E., DE JONG, A., SCHEER, M., 1997. Antimicrobial activity of fluoroquinolones in serum and tissue in turkeys. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1), 196-197.
- HEISIG, P., 1996. Genetic evidence for a role of parC mutations in development of high-level fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*; 40: 879-855.
- HIGGINS, P.G., FLUIT, A.C. Y SCHMITZ, F.J., 2003. Fluoroquinolones: Structure and target sites. *Current Drug Targets* 4:181-190.
- HO, P.L., QUE, T.L., TSANG, D.N.C., NG, T.K., CHOW, K.H., SETO, W.H., 1999. Emergence of fluoroquinolone resistance among multiply resistant strains of *Streptococcus pneumoniae* in Hong Kong. *Antimicrob Agents Chemother*;43:1310-3.
- HOELLMAN, D.B., LIN, G., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1999. Anti-pneumococcal activity of gatifloxacin compared with other quinolone and non-quinolone agents. *J Antimicrob Chemother*; 43:645-9.
- HOOPER, D.C. Y WOLFSON, J.S., 1985. The fluoroquinolones: pharmacology, clinical uses, and toxicities in humans. *Antimicrob.Agents Chemother.* 28:716-721.
- HOOPER, D.C., 1998. Bacterial topoisomerases, anti-topoisomerases, and antitopoisomerase resistance. *Clin.Infect.Dis.* 27 Suppl 1:S54-S63.
- HOOPER, D.C., 2000. Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. *Clin.Infect.Dis.* 31:S24-S28.
- HYOUNG-RYUN, P., TAE HEUNG, K., KI-MIN, B., 2002. Physicochemical properties of quinolone antibiotics in various environments. *Eur. J. Med. Chem.* 27; 443-360.

- IBRAHIM, K.H., HOVDE, L.B., ROSS, G., GUNDERSON, B., WRIGHT, D.H., ROTSCHAFFER, J.C., 2002. Microbiologic effectiveness of time- or concentration-based dosing strategies in *Streptococcus pneumoniae*. *Diagnostic Microbiology Infectious Diseases* 44, 265–271.
- IHRKE, P.J., PAPICH, M.G., & DEMANUELLE, C., 1999. The use of fluoroquinolones in veterinary dermatology. *Veterinary Dermatology*, 10(3): 193-204.
- INTORRE, L., MENGOZZI, G., MACCHERONI, M., BERTINI, S., SOLDANI, G., 1994. Influence of enrofloxacin on theophylline steady-state serum concentration in the dog [poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology*, Edinburgh, Scotland.; p.100.
- INUI, T., TAIRA, T., MATSUSHITA, T., ENDO, T., 1998. Pharmacokinetic properties and oral bioavailabilities of difloxacin in pig and chicken. *Xenobiotica* 28, 887–893.
- JACOBS-REITSMA, W.F., KAN, C.A., BOLDER, N.M., 1994. The induction of quinolone resistance in *Campylobacter* bacteria in broilers by quinolone treatment. *Letters in Applied Microbiology*; 9 (4): 228-231.
- JACOBY, G.A., 2005. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clinical Infectious Diseases*; 41: S120-6.
- JENKINS, W., FRIEDLANDER, L., 1988. The pharmacology of the quinolone antibacterial agents. In: *Quinolones; A new class of antimicrobials agents for use in veterinary medicine*. Proc West Vet Conf, Las Vegas, Nevada: Mobay Corporation Animal Health Division, Shawnee, Kansas. 5-16.
- JONES, R.B., VAN DER POL, B., JOHNSON, R.B., 1997. Susceptibility of *Chlamydia trachomatis* to trovafloxacin. *J Antimicrob Chemother*;39(Suppl. B):63–5.
- JONES, M.E., CRITCHLEY, I.A., KARLOWSKY, J.A., BLOSSER-MIDDLETON, R.S., SCHMITZ, F.J., THORNSBERRY, C. Y SAHM, D.F., 2002. In vitro activities of novel nonfluorinated quinolones PGE 9262932 and PGE 9509924 against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*

- with defined mutations in DNA gyrase and topoisomerase IV. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:1651-1657.
- JORDAN, F., HORROCKS, B., FROYMAN, R., 1993. A model for testing the efficacy of enrofloxacin (Baytril) administered to turkey hens in the control of *Mycoplasma iowae* infection in hegs and embryos . *Avian diseases.*; 37 (4):1057-1061.
- KAARTINEN, L., SALONEN, M., ÄLLI, L., PYÖRÄLÄ, S., 1995. Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous, intramuscular and subcutaneous injections in lactating cows. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 18: 357-362.
- KAARTINEN, L., PAM, S., PYÖRÄLÄ, S., 1997a. Pharmacokinetics of enrofloxacin in horses after single intravenous and intramuscular administration. *Equine Veterinary Journal.*; 29 (5):378-381.
- KAARTINEN, L., PYÖRÄLÄ, S., MOILANEN, M., RÄISÄNEN, S., 1997b. Pharmacolinetics of enrofloxacin in newborn and 1-week-old calves. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 20, 470-482.
- KAMALI, F., ASHTON, C.H., MARSH, V.R., COX, J., 1998. Assessment of the effects of combination therapy with ciprofloxacin and fenbufen on the central nervous systems of healthy volunteers by quantitative electroencephalography. *Antimicrob Agents Chemother*; 42: 1256-8.
- KARABLUT, N., DRUSANO, G.L., 1993. Pharmacokinetics of the quinolone antimicrobial agents. In: Hooper, D.C., Wolfson, J.S. (Eds.), *Quinolone Antimicrobial Agents*. American Society for Microbiology, Washington, DC, pp. 195–223.
- KATO, J., NISHIMURA, Y., IMAMURA, R., NIKI, H., HIRAGA, S. & SUZUKI, H., 1990. New toposomerase essential for chromosome segregation in *E. coli*. *Cell* 63, 393-404.
- KHARGHARIA, S., BARUA, CC, KHANIKAR, HN., MOHAN, P., 2008. Kinetics studies of enrofloxacin after intravenous administration in yak. *Pharmacologyonline* 3: 545-551.
- KIETZMANN, M., KNOLL, U., GLÜNDER, G., 1997. Pharmacokinetics of enrofloxacin and danofloxacin in broiler chickens. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1): 202.

- KING, D. E., MALONE, R.Y LILLEY, S.H., 2000. New classification and update on the quinolone antibiotics. *Am.Fam.Physician* 61:2741-2748.
- KITAMURA, A., HOSHINO, K., KIMURA, Y., HAYAKAWA, I., SATO, K., 1995. Contribution of the C-8 substituent of DU-6859a, a new potent fluoroquinolone, to its activity against DNA gyrase mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*;39:1467–71.
- KNUPP, C.A., BARBHAIYA, RH., 1997. A multiple-dose pharmacokinetic drug interaction study between didanosine (Videx) and ciprofloxacin (Cipro) in male subjects seropositive for HIV but asymptomatic. *Biopharm Durg Dispos*; 18: 65-77.
- KORDICK, D.L., PAPICH, M.G., BREITSCHWERDT, E.B., 1997. Efficacy of enrofloxacin or doxycycline for treatment of *Bartonella henselae* or *Bartonella clarridgeiae* infection in cats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.;41 (11): 2448-55.
- KOTERA, Y., WATANABE, M., YOSHIDA, S., INOUE, M., MITSUHASHI, S., 1991. Factors influencing the uptake of norfloxacin by *Escherichia coli*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 27, 733–739.
- KOVAR, A., DALLA, C.T., DERENDORF, H., 1997. Comparison of plasma and free tissue levels of ceftriaxone in rats by microdialysis. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 86, 52–56.
- KRUSE, H., HOFSHAGEN, M., THORESEN, S.I., BREDAL, W.P., VOLLSET, I., SOLI, N.E., 1996. The antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from canine dermatitis. *Veterinary Research Communication*.; 20 (3): 205-214.
- KÜNG, K., RIOND, L., WANNER, M., 1993. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and oral administration of enrofloxacin in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*.; 16: 462-468.
- LANGSTON, V.C., SEDRISH, S., BOOTHE, D.M., 1996. Disposition of single-dose oral enrofloxacin in the horse. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*; 19: 316-319.
- LEDOUSSAL, B., ALMSTEAD, J.K., FLAIM, C.P., 1999. Novel fluorquinolone, structure-activity and design of new potent and safe agents. 39<sup>th</sup> Interscience Conference on Antmicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco; F-544.

- LEES, P. & SHOJAEI ALIABADI, F.S., 2002a. Rational dosing of antimicrobial drugs: animals versus humans. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 19: 269-284.
- LEES, P. & ALIABADI, F.S., 2002b. Antimicrobianos que inhiben la función de los ácidos nucleicos. En: *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Eds: Botana LM, Landoni F, Martín-Jiménez T. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid. Pág: 484-488.
- LEKEUX, P., ART, T., 1988. Effect of enrofloxacin therapy on shipping fever pneumonia in feedlot cattle. *Veterinary Record*; 123, 205-207.
- LESHER, G.Y., FROELICH, E.J., GRUETT, M.D., BAILEY, J.H., BRUNDAGE, R.P., 1964. 1,8-naphthyridene derivatives: a new class of chemotherapeutic agents. *J Med. Chem.* 5: 1063-1065.
- LEWBART, G., VANDEN, S., DEEN, J., MANAUGH, C., WHITT, D., DOI, A., SMITH, T. & FLAMMER, D., 1997. Pharmacokinetics of enrofloxacin in the red pacu (*Colossoma brachypomum*) after intramuscular, oral and bath administration. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, 20: 124-128.
- LIETMAN, P.S., 1995. Fluorquinolone toxicities: an update. *Drugs*; 49 (Suppl. 2): 159-63.
- LINDENSTRUTH, H., FROST, J.W., 1993. Enrofloxacin (Baytril®) an alternative for official prophylaxis and treatment of psittacosis in imported psittacine birds. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.*; 100 (9): 364-368.
- LIPSKY, B.A., BARKER, C.A., 1999. Fluorquinolone toxicity profiles: A review focusing on newer agents. *Clin Infect Dis*; 28: 352-364.
- LIZONDO, M., PONS, M., GALLARDO, M., ESTELRICH, J., 1997. Physicochemical properties of enrofloxacin. *J. Pharma. Biomed. Anal* 15; 1845-1849.
- LODE, H., BORNER, K., KOEPPE, P., 1998. Pharmacodynamics of fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases* 27, 33-39.
- LOMAESTRO, B.M., BAILIE, G.R., 1991. Quinolone-cation interactions: A review. *DICP. Ann Pharmacother*; 25: 1249-1258.
- LONGER, M.A. Y ROBINSON, J.R., 1987. Sistema de liberación sostenida de fármacos. En *Remington Farmacia* 17ªed. Panamericana. Buenos Aires. Pp 2240-2264.

- LOWY, F D., 1998. *Staphylococcus aureus* infections. NEJM; 339:520-32.
- LUBASCH, A., KELLER, I., BORNER, K., KOEPPE, P. & LOFE, H., 2000. Comparative pharmacokinetics of ciprofloxacin, gatifloxacin, grepafloxacin, levofloxacin, trovafloxacin and moxifloxacin after single oral administration in healthy volunteers. Antimicrob. Agents Chemoter. 44(10): 2600-2603.
- MA, D., COOK, D.N., ALBERTI, M., PON, N.G., KIKAIDO, H., HEARST, J.E., 1995. Genes *acrA* and *acrB* encode a stress-induced efflux system of *Escherichia coli*. J Mol Microbiol; 16: 45-55.
- MACGOWAN, A.P., BOWKER, K.E., HOLT, H.A., WOOTTON, M., REEVES, D.S., 1997. Bay 12-8039, a new methoxy-quinolone: comparative in-vitro activity with nine other antimicrobials against anaerobic bacteria. J Antimicrob Chemother;40:503–9.
- MACGOWAN, A.P., ROGERS, C.A., HOLT, H.A., WOOTON, M., BOWKER, K.E., 2001. Pharmacodynamics of gemifloxacin against *Streptococcus pneumoniae* in an in vitro pharmacokinetic model of infection. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 45, 2916–2921.
- MACGOWAN, A., BOWKER, K., 2002. Developments in PK/PD: optimising efficacy and prevention of resistance. A critical review of PK/PD in in vitro models. International Journal of Antimicrobial Agents 19, 291–298.
- MAHMOOD, I., 2001. Application of preclinical data to initiate the modified continual reassessment method for maximum tolerated dose-finding trials. Journal of Clinical Pharmacology 41, 19–24.
- MALBE, M., SALONEN, M., FANG, W., ÖÖPIK, T., JALAKAS, M., KLAASSEN, M., SANDHOLM, M., 1996. Disposition of enrofloxacin (Baytril) into the udder after intravenous and intraarterial injections into dairy cows. Journal of Veterinary Medicine A.; 43: 377-386.
- MANDELL, L.A., BALL, P. & TILLOTSON, G., 2001. Antimicrobial safety and tolerability: differences and dilemmas. Clin. Infect. Dis., 15;32 (1): S72-9.
- MANN, D.D., FRAME, G.M., 1992. Pharmacokinetic study of danofloxacin in cattle and swine. American Journal of Veterinary Research 53, 1022–1026.

- MARÍN, P., ESCUDERO, E., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., CÁRCELES, CM., 2007a. Pharmacokinetics and milk penetration of orbifloxacin after intravenous, subcutaneous, and intramuscular administration to lactating goats. *American Dairy Science Association*, 90:4219-4225.
- MARÍN, P., CÁRCELES, CM., ESCUDERO, E., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., 2007b. Pharmacokinetics and milk penetration of ibafloxacin after intravenous administration to lactating goats. *The Canadian Journal of Veterinary Research.*, 71: 74-76.
- MARÍN, P., ESCUDERO, E., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., CÁRCELES, CM., 2007c. Pharmacokinetics and milk penetration of difloxacin after intravenous, subcutaneous and intramuscular administration to lactating goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 30: 74-79.
- MARÍN, P., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., ESCUDERO, E., CÁRCELES, CM., 2007d. Pharmacokinetics after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration of difloxacin in sheep. *Research in Veterinary Science* 83, 234-238.
- MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R., DIAZ M.J., MARTÍNEZ, M.A., FREJO, M.T., BRINGAS, P., ANADÓN, A., 1997. Bioavailability of enrofloxacin after subcutaneous administration in cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1), p. 52.
- MARTINEZ-MARTINEZ, L., PASCUAL, A. Y JACOBY, G.A., 1998. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 351:797-799.
- MARTINEZ, M., MCDEMOTT, P., WALKER, R., 2006. Pharmacology of the fluorquinolones: a perspective for the use in domestic animals. *The Veterinary Journal* 172; 10-28.
- MARTINSEN, B., OPPEGAARD, H., WICHSTROM, R., MYHR, E., 1992. Temperature-dependent in vitro antimicrobial activity of four 4-quinolones and oxytetracycline against bacteria pathogenic to fish. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*; 3, (8): 1738-1743.
- MATSCHKE, C., ISELE, U., VAN HOOGEVEST, P., FAHR, A., 2002. Sustained-release injectables formed in situ and their potential use for veterinary products. *Journal of Controlled Release*, 85: 1-15.



- MATSUO, H., RYU, M., NAGATA, A. Y COLS., 1998. Neurotoxicodynamics of the interaction between ciprofloxacin and foscarnet in mice. *Antimicrob Agents Chemother*; 42: 691-4.
- MAXWELL, A., 1997. DNA gyrase as a drug target. *Trends Microbiol.* 5:102-109.
- MAXWELL, A., CRITCHLOW, S.E., 1998. Mode of action. In: Kuhlman, J., Zeiler, H.J. (Eds.), *Quinolone Antibacterials*. Springer, Berlin, pp. 119–166.
- MC. DONNARD, P.J., CRAIG, W.A., KUNIN, C.M., 1976. Brief antibiotic exposure and effect on bacterial growth. *Chemotherapy*. Ed williams J.D. and Geddes A.M. (Ny), 2: 95-102.
- MC. DONNARD, P.J., CRAIG, W.A., KUNIN, C.M., 1977. Persistent effect of antibiotics on *Staphylococcus aureus* after exposure for limited periods of time. *J. Infect. Dis.*, 135: 2 17-223.
- MC. DONNARD, P.J., WETHERALL, B.L., PRUUL, H., 1981. Postantibiotic leukocyte enhancement: increased susceptibility of bacteria pretreated with antibiotics to activity of leukocyte. *Rev. Infect. Dis.*, 3: 38-44.
- MCKELLAR, Q.A., 1996. Clinical relevance of the pharmacologic properties of fluorquinolones. *Suppl Compend Contin Educ Pract Veterinary*;18 (2): 14-21.
- MCKELLAR, Q.A., GIBSON, I., MONTEIRO, A., BREGANTE, M., 1997. Pharmacokinetics study comparing enrofloxacin and danofloxacin in calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1), 23-24.
- MCKELLAR, Q.A., GIBSON, I.F., MCCORMACK, R.Z., 1998. Pharmacokinetics and tissue disposition of danofloxacin in sheep. *Biopharmaceutics and Drug Disposition* 19, 123–129.
- MCKELLAR, Q.A., GIBSON, I., MONTEIRO, A., BREGANTE, M., 1999. Pharmacokinetics of enrofloxacin and danofloxacin in plasma, inflammatory exudate, and bronchial secretions of calves following subcutaneous administration. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43 (8), 1988-1992.
- MCLELLAN, R.A., DROBITCH, R.K., MCLELLAN, H., ACOTT, P.D., CROCKER, J.F., RENTON, K.W., 1995. Norfloxacin interferes with cyclosporine disposition in pediatric patients undergoing renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther*; 58: 322-7.

- MENGOZZI, G., INTORRE, L., BERTINI, S., SOLDANI, G., 1996. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and intramuscular administration in sheep. *American Journal Of Veterinary Research.*; 57 (7): 1040-1043.
- MERCK VETERINARY MANUAL, 1998. Quinolones. In: Aiello, S., Mays, A. (Eds), Title. Merck & Co., Whitehouse Station, NJ, pp. 1761-1765.
- MICHOT, J.M., SERAL, C., VAN BAMBEKE., F., MINGEOT-LECLERCQ, M.P. & TULKENS, P.M., 2005: Influence of efflux transporters on the accumulation and efflux of four quinolones (ciprofloxacin, levofloxacin, garenoxacin, and moxifloxacin) in J1774 macrophages. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49(6): 2429-2437.
- MIZUUCHI, K., FISHER, L.M., O'DEA, M.H., GELLERT, M., 1980. DNA gyrase action involves the introduction of transient double-strand breaks into DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 77:1847-1851.
- MONLOUIS, J.D., DE JONG, A., LIMET, A., RICHEZ, P., 1997. Plasma pharmacokinetics and urine concentrations of enrofloxacin after oral administration of enrofloxacin in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1): 61-63.
- MOUTON, J.W., DUDLEY, M.N., CARS, O., DERENDORF, H. & DRUSANO, G.L., 2005. Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *J. Antimicrob. Chemother.*, 55 (5): 601-607.
- MUAMMER ELMAS, BUNYAMIN TRAS, SEZAI KAYA, AHMET LEVENT BAS, ENVER YAZAR, ENDER YARSAN, 2001. Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular administration in angora goats. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 65: 64-67.
- MUAMMER ELMAS, KAMIL ÜNEY, ENVER YAZAR, AYSE KARABACAK, BÜNYAMIN TRAS, 2007. Pharmacokinetics of enrofloxacin following intravenous and intramuscular administration in angora rabbits. *Research in Veterinary Science*, 82: 242-245.
- MULLER, M., STAB, H., BRUNNER, M., MOLLER, JG., LACKNER, E., EICHLER, H.G., 1999. Penetration of moxifloxacin into peripheral compartments in humans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43, 2345–2349.

- MUÑOZ, R., DE LA CAMPA, A.G., 1996. ParC subunit of DNA topoisomerase IV of *Streptococcus pneumoniae* is a primary target of quinolones and cooperates with DNA gyrase A subunit in forming resistance phenotype. *Antimicrob Agents Chemother*; 40: 2252-2257.
- NAKAMURA, S., 1997. Mechanisms of quinolone resistance. *J Infect Chemother*; 22 (Suppl. C): 1-8.
- NAKANE, T., IYOBE, S., SATO, K., MITSUHASHI, S., 1995. In vitro antibacterial activity of DU-6859a, a new fluoroquinolone. *Antimicrob Agents Chemother*;39:2822-6.
- NARASIMHAN, B. & PEPPAS, N.A., 1997. Molecular análisis of drug delivery systems controlled by dissolution of the polymer carrier. *J. Pharm. Sci.* 86 3: 297-304.
- NAZIC, H., POIREL, L. Y NORDMANN, P., 2005. Further identification of plasmid-mediated quinolone resistance determinant in enterobacteriaceae in Turkey. *Antimicrob.Agents Chemother.* 49:2146-2147.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS., 2000. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard, fifth ed. NCCLS document M7-A5, vol. 20, no. 2.
- NEER, T.M., 1988. Clinical pharmacologic features of fluoroquinolone antimicrobials drugs. *Journal of the American Veterinary Medical Association.*; 193 (5): 577-580.
- NEYFAKH, A.A., BIDNENKO, V.E., CHEN, L.B., 1991. Efflux-mediated multidrug resistance in *Bacillus subtilis*: Similarities and dissimilarities with the mammalian system. *Proc Natl Acad Sci USA*; 88 :4781-4785.
- NEYFAKH, A.A., 1992. The multidrug efflux transporter of *Bacillus subtilis* is a structural and functional homolog of the *Staphylococcus* NorA protein. *Antimicrob Agents Chemother*; 36: 484-485.
- NG, E.Y.W., TRUCKSIS, M., HOOPER, D.C., 1996. Quinolone resistance mutations in topoisomerase IV: Relationship to the flqA locus and genetic evidence that topoisomerase IV is the primary target and DNA gyrase is the secondary target of fluoroquinolones in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*; 40: 1881-1818.

- NICHOLS, M.D., DEANGELIS, K., KECK, J.L. Y BERGER, J.M., 1999. Structure and function of an archaeal topoisomerase VI subunit with homology to the meiotic recombination factor Spo11. *EMBO J.* 18:6177-6188.
- NIELSEN, P., 1997. The influence of feed on the oral bioavailability of antibiotics/chemotherapeutics in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1), 30-31.
- NIELSEN, P., GYRD-HANSEN, N., 1997. Bioavailability of enrofloxacin after oral administration to fed and fasted pigs. *Pharmacol Toxicol.*; 80 (5):246-250.
- NIGHTINGALE, C.H., GRANT, E.M., QUINTILIANI, R., 2000. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of levofloxacin. *Chemotherapy* 46 (Suppl 1), 6–14.
- NIKAIDO, H. & THANASSI, D.G., 1993: Penetration of lipophilic agents with multiple protonation sites into bacterial cells: tetracyclines and fluoroquinolones as examples. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 37(7): 1393–1399.
- NIKAIDO, H., 1996. Multidrug efflux pumps of gram-negative bacteria. *J Bacteriol*; 178: 5853-5859.
- NIKAIDO, H., ZGURSKAYA, H.I., 2001. AcrAB and related multidrug efflux pumps of *Escherichia coli*. *J Mol Microbiol Biotechnol*; 3: 215-218.
- NORD, C.E., 1995. Effect of quinolones on the human intestinal microflora. *Drug*; 49 (Suppl. 2): 81-5.
- NORRBY, S.R., 1991. Side effects of quinolones: comparisons between quinolones and other antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 10:378-83.
- OKAZAKI, O., KOJIMA, C., HAKUSUI, H., NAKASHIMA, M., 1991. Enantioselective disposition of ofloxacin in humans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 35, 2106–2109.
- OKERMAN, L., DEVRIESE, L.A., GEVAERT, D., UYTTEBROEK, E., HAESBROUCK, F., 1990. In vivo activity of orally administered antibiotics and chemotherapeutics against acute septicaemic pasteurellosis in rabbits. *Laboratory Animals.*; 24 (4):341-344.
- OLIPHANT, C.M. Y GREEN, G.M., 2002. Quinolones: a comprehensive review. *Am.Fam.Physician* 65:455-464.

- ORERO, A., CANTÓN, E., PEMÁN, J. & GOBERNADO, M., 2002: Penetración de los antibióticos en los polimorfonucleares humanos, con especial referencia a las quinolonas. *Rev. Esp. Quimioterap.* 15(2).
- OTERO, J.L., MESTORINO, N., ERRECALDE, J.O., 2001a. Enrofloxacin: una fluorquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte I: Química, mecanismo de acción, actividad antimicrobiana y resistencia bacteriana. *Analecta Veterinaria* 21, 1:31-41.
- OTERO, J.L., MESTORINO, N., ERRECALDE, J.O., 2001b. Enrofloxacin: una fluorquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte II: Farmacocinética y toxicidad. *Analecta Veterinaria* 21, 1:42-49.
- OWENS, J.R., AMBROSE, P.G., 2002. Pharmacodynamics of quinolones. In: Nightingale, C.H., Murakawa, T., Owens Jr., R.C. (Eds.), *Antimicrobial Pharmacodynamics in Theory and Clinical Practice*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 155–176.
- OWENS, J.R., AMBROSE, P.G., 2002b. Torsades de pointes associated with fluoroquinolones. *Pharmacotherapy* 22, 663–668.
- PACE, G.L., GATT, P., 1989. Fatal vasculitis associated with ofloxacin (letter). *Br Med J*; 299:658.
- PALUMBO, M., GATTO, B., ZAGOTTO, G. Y PALU, G., 1993. On the mechanism of action of quinolone drugs. *Trends Microbiol.* 1:232-235.
- PAPICH, M.G., VAN CAMP, S.D., COLE, J.A. & WHITACRE, M.D., 2002. Pharmacokinetics and endometrial tissue concentrations of enrofloxacin and the metabolite ciprofloxacin after iv administration of enrofloxacin to mares. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 25, 343-350.
- PARKER, R.F., MARSH, H.C., 1946. The action of penicillin on *Staphylococcus*. *J. Bacteriol.* 51: 181-186.
- PASCUAL, A., GARCÍA, I., 1998. Penetración y actividad intracelular de las fluorquinolonas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.*; 16 (3):138-143.
- PASTOR, A. & CANTÓN, E., 1999: Interacciones de las bacterias y el antimicrobiano durante la fase de efecto postantibiótico. *Rev. Esp. Quimioterap.*,12(4).

- PATON, J.H., REEVES, D.S., 1992. Adverse reactions to fluorquinolones. *Adverse Drug Reaction Bull*; 153: 575-8.
- PELLERIN, J.L., BOURDEAU, P., SEBBAG, H., PERSON, J.M., 1988. Epidemiosurveillance of antimicrobial compound resistance of *Staphylococcus intermedius* clinical isolates from canine pyodermas. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*; 21 (2): 115-133.
- PETERSON, L.R., 2001. Quinolone molecular structure-activity relationships: What we have learned about improving antimicrobial activity. *Clin.Infect.Dis.* 33:S180-S186.
- PHILLIPS, I., KING, A., SHANNON, K., 1998. In vitro properties of the quinolones. In: Andriole, V.T. (Ed): *The Quinolones*. Academic Press, San Diego, California, pp 81-116.
- PIDDOCK, L.J., WALTERS, R.N. & DIVER, J.M., 1990. Correlation of quinolone MIC and inhibition of DNA, RNA, and protein synthesis and induction of the SOS response in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34 (12): 2331-2336.
- PIDDOCK, L.J., 1994. New quinolones and Gram-positive bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38, 163-169.
- PIDDOCK, L.J., JOHNSON, M., RICCI, V., HILL, S.L., 1998. Activities of new fluorquinolones against fluorquinolone-resistant pathogens of the lower respiratory tract. *Antimicrob Agents Chemother*; 42: 2956-2960.
- PIDDOCK, L.J., 1999. Mechanisms of fluoroquinolone resistance: An update 1994-1998. *Drugs*; 58 (Suppl. 2): 11-18.
- PIDDOCK, L.J., JOHNSON, M.M., 2002. Accumulation of 10 fluoroquinolones by wild-type or efflux mutant *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*; 46: 813-820.
- PIERFITTE, C., GILLET, P., ROYER, R.J., 1995. More on fluorquinolone antibiotics and tendon rupture (letter). *N Engl J Med*; 332:193.
- PIJPERS, A., HEINEN, E., DE JONG, A., VERHEIJDEN, J.H.M., 1997. Enrofloxacin pharmacokinetics after intravenous and intramuscular administration in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1): 42-43.

- PIRIZ, S., VALLE, J., MATEOS, E.M., DE LA FUENTE, R., CID, D., RUIZ-SANTAQUITERIA, J.A., VADILLO, S., 1996. *In vitro* activity of fifteen antimicrobial agents against methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus intermedius*. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 19 :118-123.
- PLA, J.M. & OBACH, R., 1982. PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS CON SU FUNDAMENTO FARMACOLÓGICO. (dir: J. Esplugues). *Farmacología general*. Fundación García Muñoz. Valencia. 7: 19-54.
- PLA, J.M. & POZO, A. del, 1974: MANUAL DE INICIACIÓN A LA BIOFARMACIA (Farmacocinética aplicada). Romargraf. Barcelona.
- POOLE, K., KREBES, K., MCNALLY, C., NESHAT, S., 1993. Multiple antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Evidence for involvement of an efflux operon. *J Bacteriol*; 175: 7363-7372.
- POOLE, K., 2000. Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in gram-negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44, 2233–2241.
- POZZIN, O., HARRON, D.W.G., NATION, G., TINSON, A.H., SHEEN, R., DHANASEKHARAN, S., 1997. Pharmacokinetics of enrofloxacin following intravenous/intramuscular/oral administration in Nedji sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1): 60.
- PRESTON, S.L., DRUSANO, G.L., BERMAN, A.L., FOWLER, C.L., CHOW, A.T., DORNSEIF, B., REICHL, V., NATARAJAN, J., CORRADO, M., 1998. Pharmacodynamics of levofloxacin: a new paradigm for early clinical trials. *Journal of the American Medical Association* 279, 125–129.
- PREZANT, R.M., ISAZA, R., JACOBSON, E.R., 1994. Plasma concentrations and disposition kinetics of enrofloxacin in Gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine.*; 25 (1): 82-87.
- PYÖRÄLÄ, S., 1994. Local tissue damage in cows after intramuscular injections of eight antimicrobial agents. *Acta veterinaria scandinavica.*; 35: 107-110.
- PYÖRÄLÄ, S., PANU, S., KAARTINEN, L., 1994. Single-dose pharmacokinetics of enrofloxacin in horses [poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology*, Edinburgh, Scotland.; p. 45-46.

- RABBAA, L., DAUTREY, S., COLAS-LINHART, N., CARBON, C., FARINOTTI, R., 1997. Absorption of ofloxacin isomers in the rat small intestine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 41: 2274–2277.
- RADANT, J.M., MARCHBANKS, C.R., DUDLEY, M.N., 1992. Interactions of fluorquinolones with other drugs: mechanisms, variability, clinical significance, and management. *Clin Infect Dis*; 14:272-84.
- RAHAL, A., KUMAR, A., AHMAD, A.H., MALIK, J.K., & AHUJA, V., 2006. Pharmacokinetics of enrofloxacin in sheep following intravenous and subcutaneous administration. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 29, 321-324.
- RAMESH, S., RAO, G.S., MALIK, JK., 2002. Pharmacokinetic disposition of subcutaneously administered enrofloxacin in goats. *Veterinary Research Communications*, 26: 563-569.
- RAO, G.S., RAMESH, S., AHMAD, A.H., TRIPATHI, H.C., SHARMA, L.D., MALIK, J.K., 2001. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intramuscular administration of enrofloxacin in goats. *Veterinary Research Communications*, 25: 197-204.
- RAO, G.S., RAMESH, S., AHMAD, A.H., TRIPATHI, H.C., SHARMA, L.D., MALIK, J.K., 2002a. Disposition kinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin following intravenous administration of enrofloxacin in goats. *Small Ruminant Research* 44: 9-15.
- RAO, G.S., RAMESH, S., AHMAD, A.H., TRIPATHI, H.C., SHARMA, L.D., MALIK, J.K., 2002b. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in goats given enrofloxacin alone and in combination with probenecid. *The veterinary Journal*, 163, 85-93.
- RAPHAEL, B.L., PAPICH, M., COOK, R.A., 1994. Pharmacokinetics of enrofloxacin after a single intramuscular injection in Indian star tortoises (*Geochelone elegans*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine.*; 25 (1):88-94.
- READ, R.C., MORRISSEY, I., AMBLER, J.E., 2000. *Clinicians manual on respiratory tract infections and fluorquinolones*. Scienci Press, London UK.
- RENAU, T.E., GAGE, J.W., DEVER, J.A. Y COLS., 1996. Structure-activity relationships of quinolone agents against mycobacteria: Effect of structural modifications at the 8 position. *Antimicrob Agents Chemother*; 40: 2363-2368.



- RICHEZ, P., DELLAC, B., FROYMAN, R., 1994. Pharmacokinetics and bioavailability of enrofloxacin in pigs after single and repeated in-feed medication with Baytril I.E.R. 2,5 % [oral communications]. Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology. Session 9: Anti-microbials and Chemotherapeutics, Edinburgh, Scotland.; p. 207.
- RICHEZ, P., MONLOUIS, J.D., DELLAC, D., DAUBE, G., 1997. Validation of a therapeutic regimen for enrofloxacin in cats on the basis of pharmacokinetic data. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*.; 20 (Suppl. 1): 152-153.
- RIDGWAY, G.L., MUMTAZ, G., GABRIEL, F.G., ORIEL, J.D., 1984. The activity of ciprofloxacin and other 4-quinolones against *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasmas* in vitro. *Eur J Clin Microbiol*;3:344–6.
- RIDGWAY, G.L., O'HARE, M.D., FELMINGHAM, D., GRÜNEBERG, R.N., 1985. The comparative activity of twelve 4-quinolone antimicrobials against *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*. *Drugs Exp Clin Res*;11:259–62.
- ROBLIN, P.M., KUTLIN, A., HAMMERSCHLAG, M.R., 1997. In vitro activity of trovafloxacin against *Chlamydia pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*;41:2033–4.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ, J. M., PASCUAL, A., GARCIA, I. Y MARTINEZ-MARTINEZ, L., 2003. Detection of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnr among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing AmpC-type beta-lactamase. *J.Antimicrob.Chemother.* 52:703-706.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ, J. M., 2005. [Mechanisms of plasmid-mediated resistance to quinolones]. *Enferm.Infecc.Microbiol.Clin.* 23:25-31.
- ROSEN, T., CHU, D.T.W., LICO, IM, FERNANDES, P.B., MARSH, K., SHEN, L., 1988. Design, synthesis, and properties of (4S)-7-(4-amino-2-substitued-pyrrolinyl) quinolone-3-carboxylic acids. *J Med Chem*; 31: 1598-1611.
- ROYCHOUDHURY, S. Y LEDOUSSAL, B., 2002. Non-fluorinated quinolones (NFQs): new antibacterials with unique properties against quinolone-resistant gram-positive pathogens. *Curr.Drug Targets.Infect.Disord.* 2:51-65.
- RUBINSTEIN, E., 2001. History of quinolones and their side effects. *Chemotherapy*, 47 (Suppl3):3-8.

- SALMON, S.A., WATTS, J.L., CASE, C.A., HOFFMAN, C.A., WEGENER, H.C., YANCEY JR, R.J., 1995. Comparison of MICs of ceftiofur and other antimicrobial agents against bacterial pathogens of swine from the United States, Canada, and Denmark. *J Clin Microbiol.*; 33, (9): 2435-2444.
- SÁNCHEZ DIAZ, P., 2003. Sistemas MDR y resistencia a los antimicrobianos. *Revis. Española de Quimioterapia*. Vol.16 (Nº 2): 172-187.
- SÁRKÖZY, G., 2001. Quinolones: a class of antimicrobial agents. *Vet. Med.- Czech*, 46 (9-10). 257-274.
- SCHAEFLER, S., 1989. Methicilin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* resistant to quinolones. *J Clin Microbiol.*; 27: 335-6.
- SCHEDLETZKY, H., WIEDEMANN, B. & HEISIG, P., 1999. The effect of moxifloxacin on its target topoisomerases from *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.* 43: 31-37.
- SCHEER, M., 1987. Concentrations of active ingredient in the serum and in tissue after oral and parenteral administration of Baytril®. *Veterinary Medicine Review*; 2: 104-118.
- SCHEER, M., DE JONG, A., 1997. Concentrations of fluoroquinolones in intestinal tract tissues after intramuscular administration to calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1): 50-51.
- SCHENTAG, J.J., SCULLY, B.E., 1999. Antimicrobial therapy and vaccines. In: Yu VL, Merigan TC Jr, Barriere SL, eds. *Quinolones*. Baltimore: Williams & Wilkins, 875-901.
- SCHMITZ, F. J., HIGGINS, P.G., MAYER, S., FLUIT, A.C. Y DALHOFF, A., 2002. Activity of quinolones against gram-positive cocci: Mechanisms of drug action and bacterial resistance. *Eur. J Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 21:647-659.
- SCHONING, G., PLONAIT, H., 1990. Metaphylaxis and therapy of the MMA syndrome of sows with Baytril. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*; 97 (1): 5-10.
- SERGIO MELLA, M., GUILLERMO ACUÑA, L., MARITZA MUÑOZ, Q., CARLOS PEREZ, C., JAIME LABARCA, L., GERARDO GONZALEZ, R., HELIA BELLO, T., MARIANA DOMINGUEZ, Y., Y RAUL ZEMELMAN, Z., 2000. Quinolonas: aspectos generales sobre su estructura y clasificación. *Rev Chil Infect.*; 17 (1): 53-66.

- SHEN, L.L., MITSCHER, L.A., SHARMA, P.N. Y COLS., 1989. Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: A cooperative drug-DNA binding model. *Biochemistry*; 28: 3886-3894).
- SHIBA, K., SAKAI, O., SHIMADA, J., 1992. Effect of antacids, ferrous sulfate, and ranitidine on absorption of DR-3355 in humans. *Antimicrob Agents Chemother*; 36:2270-4.
- SHLOSBERG, A., ERSHOV, E., BELLAICHE, M., HANJI, V., WEISMAN, Y., SOBACK, S., 1997. The inhibitory effects of the fluorquinolone antimicrobials norfloxacin and enrofloxacin on hepatic microsomal cytochrome P-450 monooxygenases in broiler chickens. *Drug Metabol Drug Interac.*; 14 (2):109-122.
- SHOJAEI ALIABADI, F.S. & LEES, P., 2003. Pharmacokinetic-pharmacodynamic integration of danofloxacin in the calf. *Res.Vet. Sci*, 74: 247-259.
- SIEFERT, H.M., DOMDEY-BETTE, A., HENNINGER, K., HUCKE, F., KOHLSDORFER, C., STASS, H.H., 1999. Pharmacokinetics of the 8-methoxyquinolone, moxifloxacin: a comparison in humans and other mammalian species. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 43 (Suppl B), 69–76.
- SMITH, J.T., LEWIN C.S., 1988. Chemistry and mechanisms of action of the quinolone antibacterials. In: Andriole VT (ed): *The quinolones*. Academic Press, London, p. 23-82.
- SPENCER, R.C., 1998. The role of antimicrobial agents in the aetiology of *Clostridium difficile*-associated disease. *J Antimicrob Chemother*;41(Suppl C):21–7.
- SPRENG, M., DELEFORGE, J., THOMAS, V., BOISRAMÉ, B., DRUGEON, H., 1995. Antibacterial activity of marbofloxacin. A new fluoroquinolone for veterinary use against canine and feline isolates. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*; 18 :284-289.
- STAHLMANN, R., 1990. Safety profile of the quinolones. *J Antimicrob Chemother* 26 (Supple D): 31-44.
- STEGEMANN, M., WOLLEN, TS., EWET, KW., TERHUNA, TN., Y COPELAND, DD., 1997. Plasma pharmacokinetics of enrofloxacin administered to cattle at a dose of 7,5 mg/kg. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20 (Supplement 1), 22-23.

- STEIN, G.E., 1988. The 4-quinolone antibiotics: Past, present and future. *Pharmacotherapy*; 8: 301-314.
- STEIN, G.E., 2000. The methoxyfluoroquinolones: gatifloxacin and moxifloxacin *Infect. Med.*, 17(8): 564-570.
- STUDDERT, V.P., HUGHES, K.L., 1992. Treatment of opportunistic mycobacterial infections with enrofloxacin in cats [clinical reports]. *Journal American Veterinary Medicine Association.*; 201, (9): 1388-1390.
- SUMANO, L.H., 1993. Quinolonas y fluorquinolonas en medicina veterinaria. *Veterinaria México*; 24 (2): 83-92.
- SUMANO, L.H., GUTIERREZ, O.L. Y ZAMORA, Q.M., 2003. Strategic administration of enrofloxacin in poultry to achieve higher maximal serum concentrations. *Vet.J.* 165:143-148.
- SUN, Y., PENG, Y., AKSORNKOAE, N., JOHNSON, JR., GREGG BORING, J., SCRUGGS, D., COOPER, RC., LAIZURE, SC., SHUKLA, AJ., 2002. Controlled release of oxytetracycline in sheep. *Journal of Control Release* 85 (1-3): 125-134.
- SUTO, M.J., DOMAGALA, J.M., ROLAND, G.E., MAILLOUX, G.B., COHEN, M.A., 1992. Fluorquinolones: relationships between structural variations, mammalian cell cytotoxicity, and antimicrobial activity. *J Med Chem*; 35: 4745-50.
- SZARFMAN, A., CHEN, M., BLUM, M.D., 1995. More on fluorquinolone antibiotics and tendon rupture (letter). *N Engl J Med*; 332:193.
- TAKÁCS-NOVÁK, K., JÓZAN, M., SZÁSZ, G., 1995. Lipophilicity of amphoteric molecules expressed by the true partition coefficient. *Int. J. Pharm.* 113; 47-55.
- TALÉNS-VISCONTI, R., GARRIGUES, T.M. & CANTÓN, E., 2002. Quinolonas y *Streptococcus pneumoniae*. Mecanismo de acción y resistencia. *Rev. Esp. Quimioterap.*, 15(4): 313-324.
- TELLIER, R. Y KEYSTONE., J.S., 1992. Prevention of traveler's diarrhea. *Infect.Dis.Clin.North Am.* 6:333-354.
- TERHUNE, TN., SKOGERBOE, TL., SHOSTROM, VK., WEIGEL, DJ., 2005. Comparison of pharmacokinetics of danofloxacin and enrofloxacin in calves challenged with *Mannheimia haemolytica*. *American Journal of Veterinary Research*, 66; 342-349.

- THOMAS, J.K., FORREST, A., BHAVNANI, S.M., HYATT, J.M., CHENG, A., BALLOW, C.H., SCHENTAG, J.J., 1998. Pharmacodynamic evaluation of factors associated with the development of bacterial resistance in acutely ill patients during therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42, 521–527.
- THORSTEINSSON, S.B., BERGAN, T., ROHWEDDER, R., 1988. Tolerance of intravenously administered ciprofloxacin. *Chemotherapy*, 34:256-60.
- TILLOTSON, G.S., 1996. Quinolones: structure-activity relationships and future predictions. *J Med Microbiol.*; 44: 320-4.
- TOUTAIN, P.L., DEL CASTILLO, J.R., BOUSQUET-MELOU, A., 2002. The pharmacokinetic–pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Research in Veterinary Science* 73, 105–114.
- TOUTAIN, P.L. & LEES, P., 2004. Integration and modelling of pharmacokinetic and pharmacodynamic data to optimise dosage regimens in veterinary medicine. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 27: 467-477.
- TRAN, J.H. Y JACOBY, G.A., 2002. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:5638-5642.
- TRAN, J.H., JACOBY, G.A. Y HOOPER, D.C., 2005. Interaction of the plasmidencoded quinolone resistance protein Qnr with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrob.Agents Chemother.* 49:118-125.
- TULKENS, P.M., 1991. Intracellular distribution and activity of antibiotics. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*; 10: 100-106.
- TURNIDGE, J., 1999. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluoroquinolones. *Drugs*, 58 (Suppl 2): 29-36.
- USP Drug information, 2003. Fluoroquinolones veterinary-systemic. In United States Pharmacopeia Veterinary Pharmaceutical Information Monographs-Antibiotics. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 26(Suppl 2):87-108).
- VACAS FERNÁNDEZ, C., 2003. Evolución del sector caprino en la Región de Murcia (1986-2000) y su caracterización productiva al final del milenio. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.

- VAN DUIJKEREN, E., VAN KLINGEREN, B., VULTO, A.G., SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M.M., BREUKINK, H.J., VAN MIERT ASJPAM., 1995. In vitro susceptibility to antimicrobial drugs of 62 *Salmonella strains* isolated from horses in The Netherlands . *Vet Microbiol.*; 45 (1): 19-26.
- VANCUTSEM, P.M., BABISH, J.G., SCHWARK, W.S., 1990. The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *Cornell Veterinarian*; 80: 173-186.
- VANCUTSEM, P.M., BABISH, J.G., 1996. In vitro and in vivo study of the effects of enrofloxacin on hepatic cytochrome P-450. Potential for drug interactions. *Veterinary and Human Toxicology*; 38 (4): 254-259.
- VESGA, O., CONKLIN, R., STAMSTAD, T., CRAIG, W.A., 1996. Pharmacodynamic activity of Bay 12-0839 in animal infection models. In: Abstracts of the 36th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, New Orleans, LA. American Society for Microbiology, Washington, DC, p. 123. Abstract F22.
- VILA, J., RUIZ, J., MARCO, F., BARCELO, A., GONI, P., GIRALT, E. Y JIMENEZ, D.A., 1994. Association between double mutation in *gyrA* gene of ciprofloxacinresistant clinical isolates of *Escherichia coli* and MICs. *Antimicrob.Agents Chemother.* 38:2477-2479.
- VINCENT, J., HUNT, T., TENG, R., ROBARGE, L., WILLAVIZE, S.A. & FRIEDMAN, H.L., 1998. The pharmacokinetic effects of coadministration of morphine and trovafloxacin in healthy subjects. *Am. J. Surg.* 176(A Suppl ):32S-38S.
- VISALLI, M.A., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1996. MIC and time-kill study of activities of DU-6859a, ciprofloxacin, levofloxacin, sparfloxacin, cefotaxime, imipenem, and vancomycin against nine penicillin-susceptible and -resistant pneumococci. *Antimicrob Agents Chemother*;40:362-6.
- VISALLI, M.A., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1997. Antipneumococcal activity of BAY 12-8039, a new quinolone, compared with activities of three other quinolones and four oral b-lactams. *Antimicrob Agents Chemother*;41:2786-9.
- VOGELMAN, B.S, CRAIG W.A., 1985. Postantibiotic effects. *J. Antimicrob. Chemother.*, 15 (Supp. A): 37-41.

- VOGELMAN, B.S., GUDMUNDSSON, S., TURNIDGE, J., 1988. In vivo postantibiotic effect in a thigh infection in neutropenic mice. *J. Infect. Dis.*, 157(N°2): 287-298.
- VON ROSENSTIEL, N., ADAM, D., 1994. Quinolone antibacterials. An update of their pharmacology and therapeutic use. *Drugs*; 47: 872-901.
- WAGNER, J.G., 1968. Pharmacokinetics. *Am. Rev. Pharmacols.*, 8: 67-94.
- WAGNER, J.G., 1983: *Farmacocinética clínica*. Ed. Reverté. Barcelona.
- WALKER, R.D., STEIN, G.E., HAUPTMAN, J.G., MACDONALD, K.H., 1992. Pharmacokinetics evaluation of enrofloxacin administered orally to healthy dogs. *American Journal Of Veterinary Research.*; 53 (12): 2315-2319.
- WALKER, R.D., 2000. The use of fluoroquinolones for companion animal antimicrobial therapy. *Australian Veterinary Journal* 78, 84–90.
- WALSER, K., GANDORFER, B., STEINBERGER, A., TREITINGER, E., WINTER, T., 1993. Studies of the antibacterial activity and pharmacokinetics of enrofloxacin (Baytril®) in lactating cows. *Tierärztliche Umschau*; 48 (7): 414.
- WAMBERG, S., SANDGAARD, N.C.F., BIE, P., 2002. Simultaneous determination of total body water and plasma volume in conscious dogs by the indicator dilution principle. *Journal of Nutrition* 132, 1711S–1713S.
- WANG, M., TRAN, J.H., JACOBY, G.A., ZHANG, Y., WANG, F. Y HOOPER, D.C., 2003. Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. *Antimicrob.Agents Chemother.* 47:2242-2248.
- WAXMAN, S., RODRIGUEZ, C., GONZALEZ, F., DE VICENTE, M.L., SAN ANDRES, M.I., SAN ANDRES, M.D., 2001. Pharmacokinetic behaviour of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administrations in adult goats. *Journal of Veterinary Pharmacological Therapy* 24, 375–378.
- WEBER, M.A., PIDDOCK, L.J.V., 2003. The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 51, 9-11
- WETZSTEIN, H.G., DE JONG, A., 1996. In Vitro bactericidal activity and postantibiotic effect of fluorquinolones used in veterinary medicine. *Suppl Compend Contin Educ Pract Vet.*; 18 (2): 22-29.

- WILSON, D.A., ROUNSON, G.N., 1979. The recovery period following exposure of bacteria to penicillins. *Chemother.*, 25: 14-22.
- WISE, R., 1991. Comparative penetration of selected fluoroquinolones into respiratory tract fluids and tissues. *The American Journal Of Medicine.*; 91 (suppl. 6A): 67s-70s.
- WISE, R., BRENWALD, N.P., ANDREWS, J.M., BOSWELL, F., 1997. The activity of methylpiperazinyl fluoroquinolone CG 5501: a comparison with other fluoroquinolones. *J Antimicrob Chemother*;39:447-52.
- WOLFSON, J.S., HOOPER, D.C., 1989. Fluorquinolone antimicrobials agents. *Clin Microbiol Rev*; 2: 378-424.
- WOLFSON, J.S., HOOPER, D.C. 1991. Overview of fluorquinolone safety. *Am J Med*; 9 (Suppl 6A):153S-61.
- WOODCOCK, J.M., ANDREWS, J.M., BOSWELL, J.F., BRENWALD, N.P., WISE, R., 1997. In vitro activity of BAY 12-8039, a new fluoroquinolone. *Antimicrob Agents Chemother*;41:101-6.
- WRIGHT, D.H., BROWN, G.H., PETERSON, M.L., ROTSCHAFFER, J.C., 2000. Application of fluoroquinolone pharmacodynamics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 46, 669-683.
- XUAN, D., ZHONG, M., MATTOES, H., BUI, K.Q. McNABB, J., NICOLAU, D.P. QUINTILIANI, R. & NIGHTINGALE, C.H., 2001. *Streptococcus pneumoniae* response to repeated moxifloxacin or levofloxacin exposure in a rabbit tissue cage model. *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 45(3): 794-799.
- YAMAOKA, K., NAKAGAWA, T. & UNO, T., 1978. Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *J. Pharm. Biopharm.*, 6: 165-175.
- YAMAOKA, K., TAMIGAWARA, Y., & UNO, J., 1981. A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputers. *J. Pharmacobio-Dyn.*, 4: 879-885.
- YOON, J.H., BROOKS JR., R.L., KHAN, A., PAN, H., BRYAN, J., ZHANG, J., BUDSBERG, SC, MUELLER, P.O., HALPER, J., 2004. The effect of enrofloxacin on cell proliferation and proteoglycans in horse tendon cells. *Cell Biology Toxicology* 20, 41-54.



- YOSHIDA, H., BOGAKI, M., NAKAMURA, M., NAKAMURA, S., 1990. Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrA* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*; 34: 1271-1272.
- YOSHIDA, T., UEGUCHI, C., MIZUNO, T., 1993. Physical map location of a set of *Escherichia coli* genes (*hde*) whose expression is affected by the nucleoid protein H-NS. *J.Bacteriol.* 175:7747-7748
- YOSHIDA, T., YAMAMOTO, Y., ORITA, H., KAKIUCHI, M., TAKAHASHI, Y., ITAKURA, M., KADO, N., MITANI, K., YASUDA, S., KATO, H. Y ITOH., Y., 1996. Studies on quinolone antibacterials. IV. Structure-activity relationships of antibacterial activity and side effects for 5- or 8-substituted and 5,8-disubstituted-7-(3-amino-1-pyrrolidiny)-1-cyclopropyl-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acids. *Chem.Pharm.Bull.(Tokyo)* 44:1074-1085.
- ZECHIEDRICH, E. L., KHODURSKY, A.B. Y COZZARELLI N.R., 1997. Topoisomerase IV, not gyrase, decatenates products of site-specific recombination in *Escherichia coli*. *Genes Dev.* 11:2580-2592.
- ZELLER, V., JANOIR, C., KITZIS, M.D., GUTMANN, L., MOREAU, N.J., 1997. Active efflux as a mechanism of resistance in ciprofloxacin in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*;41:1973-8.
- ZENG, Z., FUNG, K., 1997. Effects of experimentally induced *Escherichia coli* infection on the pharmacokinetics of enrofloxacin in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*; 20 (Suppl. 1): 39-40.
- ZHANEL, G.G., 2001. Influence of Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Principles on Antibiotic Selection. *Current Infectious Disease Report* 3, 29–34.
- ZHANG, L., PARSONS, DL., NAVARRE, C., KOMPELLA, UB., 2002. Development and in-vitro evaluation of sustained release Poloxamer 407 (P407) gel formulations of ceftiofur. *Journal of Control Release* 85 (1-3): 73-81.
- ZHAO, B.Y., PINE, R., DOMAGALA, J., DRLICA, K., 1999. Fluorquinolone action against clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*: Effects of a C-8 methoxy group on survival in liquid media and in human macrophages. *Antimicrob Agents Chemother*; 43: 1783-1787.