



UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE VETERINARIA

ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE
FORMULACIONES POLIMÉRICAS DE LIBERACIÓN
CONTROLADA PARA ENROFLOXACINO EN OVINO

María Luisa Gabarda Cassinello

2013

DEDICATORIA

La realización de la tesis doctoral es el resultado del trabajo de un equipo de investigación, sin el que habría sido imposible su desarrollo. Ha sido un honor trabajar en el departamento de farmacología junto con un equipo de profesionales que me han ayudado diariamente a ampliar mis conocimientos y que me han ayudado a completar mi formación. Por ello me gustaría dedicarle esta tesis al departamento de farmacología ya que sin su ayuda este proyecto no sería una realidad.

En este camino tengo que darle las gracias a aquellos que diariamente me ayudan a crecer en la vida y a afrontar los nuevos retos que me propongo. A mi padre, quién me ayuda a dirigir el timón del barco que navega día a día y a Alfonso, quién me da fuerza para conseguir cada día superar nuevos retos. A mi madre, quién me ha enseñado la importancia de la observación, el orden y una visión crítica de las cosas.

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:

Al director de esta tesis Dr. Emilio Fernández Varón por permitirme realizar la tesis doctoral con este equipo de investigación, por su ayuda, consejos, y por su extraordinaria confianza mostrada.

Al Dr. Carlos Cárcelos Rodríguez, quien siempre me ha ayudado a resolver cualquier duda, quien siempre está dispuesto a ayudar y por su gran apoyo.

Al Dr. Juan Manuel Serrano Rodríguez quién me ha orientado en la realización de mi tesis y ha supuesto una ayuda inestimable en su desarrollo.

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

Al Director de la Granja Cosacor de Villarrobledo (Albacete), Carlos Palacios y a su equipo de trabajo por poner a nuestra disposición los animales empleados en el presente trabajo.

Muchas gracias a todos.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1.- Introducción histórica	8
2.2.- Estructura química y clasificación	8
2.2.1.- Estructura química	8
2.2.2.- Clasificación	15
2.3.- Relación estructura y actividad	21
2.4.- Propiedades físicas y químicas	25
2.5.- Mecanismo de acción	30
2.6.- Efecto postantibiótico de quinolonas	33
2.7.- Integración Farmacocinética-Farmacodinámica	37
2.7.1.- Antibacterianos tiempo dependiente y concentración dependiente	38
2.7.2.- Parámetros Farmacocinéticos-Farmacodinámicos. Extrapolación entre especies Animales.	39
2.7.3. Limitaciones.	39
2.7.4. Ventana de selección de mutaciones y concentración preventiva de mutantes.	40
2.8. – Espectro antibacteriano.	41
2.9.- Resistencias bacterianas	47
2.9.1.- Alteraciones que afectan a las dianas de las fluoroquinolonas	48
2.9.2.- Modificaciones que disminuyen la concentración de la Quinolona en el interior de la bacteria.	50
2.9.2.1. - Resistencias por alteración de la membrana externa en bacterias gram negativas.	51
2.9.2.2.-Resistencia a causa de la sobreexpresión de bombas de eflujo en bacterias gram positivas y gram negativas.	53
2.9.2.3.- Mecanismos de resistencia mediada por plásmidos.	53

2.9.3.- Sensibilidad a Enrofloxacin. Puntos de Corte.	56
2.10.- Propiedades farmacocinéticas	57
2.10.1.- Absorción y biodisponibilidad	58
2.10.2.- Distribución tisular y conjugación protéica.	61
2.10.3.- Aclaramiento plasmático y eliminación.	65
2.10.4.- Diferencias entre especies de la fluorquinolonas	67
2.10.5.- Diferencias entre especies deEnrofloxacin.	68
2.10.6.- Penetración en Leche.	71
2.11.- Interacciones	71
2.11.1.-Relacionadas con la estructura de la molécula:	72
2.11.2.-Interacciones a nivel de la absorción:	72
2.11.3.-Interacciones a nivel del metabolismo:	72
2.11.4.-Interacciones a nivel de la excreción:	74
2.11.5.-Otras interacciones:	74
2.11.6.-Interacciones con los alimentos:	75
2.12.- Toxicidad y efectos adversos	76
2.12.1.- Reacciones adversas gastrointestinales	78
2.12.2.- Reacciones adversas sobre el sistema nervioso central	79
2.12.3.- Reacciones de hipersensibilidad	80
2.12.4.- Reacciones de fotosensibilidad y dermatológicas	80
2.12.5.- Reacciones adversas musculoesqueléticas	80
2.12.6.- Reacciones adversas oculares	81
2.12.7.- Reacciones adversas en el aparato urinario	82
2.12.8.- Reacciones adversas cardíacas	82
2.12.9.- Reacciones Hematológicas	82
2.12.10.- Carcinogenicidad y Teratogenicidad	83

2.12.11.- Reacciones adversas hepáticas	83
2.12.12.- Reacciones descritas con Enrofloxacino	84
2.13.- Aplicaciones terapéuticas de las fluorquinolonas	85
2.14.- Indicaciones clínicas de Enrofloxacino. Indicaciones aprobadas por la agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Ficha técnica.	91
2.15.- Contraindicaciones	93
2.16.- Periodo de supresión	93
3.- MATERIAL Y MÉTODOS	94
3.1.- Material	95
3.1.1.- Material fungible	95
3.1.2.- Productos y reactivos	96
3.1.3.- Aparataje	97
3.1.4.- Software informático	98
3.2.- Animales	99
3.3.- Métodos: Protocolo experimental	99
3.4.- Técnica analítica	102
3.5.- Validación de la técnica	103
3.6.- Análisis farmacocinético	109
3.6.1.- Análisis compartimental. Plasma	109
3.6.2.- Análisis no compartimental. Plasma	110
3.6.3.- Análisis de datos. Leche	110
3.7.- Métodos estadísticos	110
3.8.- Análisis bacterianos y concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)	111
4.- RESULTADOS	115
4.1.- Administración intravenosa de enrofloxacino	116

4.2.- Ciprofloxacino como metabolito tras la administración intravenosa de enrofloxacino	118
4.3.- Administración subcutánea de enrofloxacino	124
4.4.- Ciprofloxacino como metabolito tras la administración subcutánea de enrofloxacino	129
4.5.- Administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%	132
4.6.- Ciprofloxacino como metabolito tras la administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%	137
4.7.- Administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	140
4.8.- Ciprofloxacino como metabolito tras la administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	146
4.9.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacino 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%	150
4.10.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacino como metabolito, tras la administración intravenosa, subcutánea, subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% de enrofloxacino.	153
4.11.- Excreción a través de la leche de enrofloxacino: administración intravenosa	158
4.12.- Excreción a través de la leche de ciprofloxacino: administración intravenosa	165
4.13.- Excreción a través de la leche de enrofloxacino: administración subcutánea	172
4.14.- Excreción a través de la leche de ciprofloxacino: administración subcutánea	178
4.15.- Excreción a través de la leche de enrofloxacino: administración subcutánea en solución del polímero P407 al 25%	

4.16.- Excreción a través de la leche de ciprofloxacino: administración subcutánea en solución del polímero P407 al 25%	192
4.17.- Excreción a través de la leche de enrofloxacin: administración subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	197
4.18.- Excreción a través de la leche de ciprofloxacino: administración subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	204
4.19.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacin en la leche tras su administración vía intravenosa, subcutánea, subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% +carboximetilcelulosa al 2%	212
4.20.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacino en la leche tras su administración vía intravenosa, subcutánea, subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	215
4.21.- Parámetros farmacocinéticos farmacodinámicos del enrofloxacin obtenidos frente a cepas de <i>Staphylococcus Aureus</i> .	218
4.22.- Parámetros farmacocinéticos farmacodinámicos obtenidos del ciprofloxacino frente a cepas de <i>Staphylococcus Aureus</i> .	20
5.- DISCUSIÓN	224
5.1.- Administración intravenosa de enrofloxacin en ovejas	225
5.1.1.- Modelo farmacocinético	225
5.1.2.- Parámetros farmacocinéticos	227
5.1.2.1.- Constantes híbridas de disposición rápida y lenta	228
5.1.2.2.- Microconstantes	230
5.1.2.3.- Semivida y tiempo medio de residencia	231
5.1.2.4.- Volúmenes de distribución aparente	232

5.1.2.5.- Área bajo la curva	232
5.1.2.6.- Aclaramiento plasmático	233
5.1.3 Estudio de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacino, tras la administración intravenosa de enrofloxacino.	233
5.1.3.1- Parámetros farmacocinéticos	233
5.1.3.1.1- Tiempo de Vida Media y MRT	234
5.1.3.1.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	236
5.1.3.1.3.- Área Bajo la curva	236
5.2.-Administración subcutánea de enrofloxacino en ovejas.	236
5.2.1.- Modelo farmacocinético	236
5.2.2.- Parámetros farmacocinéticos	239
5.2.2.1.- Tiempos de vida media, MRT y MAT	239
5.2.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	240
5.2.2.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	242
5.2.2.4.- Área bajo la curva y biodisponibilidad	242
5.2.3.-Estudio de ciprofloxacino, metabolito activo de Enrofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacino	243
5.2.3.1.- Parámetros farmacocinéticos	243
5.2.3.1.1- Tiempos de vida media, MRT y MAT	243
5.2.3.1.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	244
5.2.3.1.3.- Área bajo la curva	245
5.3.- Administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% en ovejas.	245
5.3.1.- Modelo farmacocinético	245

5.3.2.- Parámetros farmacocinéticos	247
5.3.2.1.- Tiempos de vida media, MRT y MAT	247
5.3.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	248
5.3.2.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	249
5.3.2.4.- Área bajo la curva y biodisponibilidad	249
5.3.3.-Estudio de ciprofloxacino, metabolito activo de Enrofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%(SC-1)	250
5.3.3.1.- Parámetros farmacocinéticos	250
5.3.3.1.1- Tiempos de vida media, MRT y MAT	250
5.3.3.1.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	252
5.3.3.1.3.- Área bajo la curva	252
5.4.- Administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% en ovejas	253
5.4.1.- Modelo farmacocinético	254
5.4.2.- Parámetros farmacocinéticos	254
5.4.2.1.- Tiempos de vida media, MRT y MAT	254
5.4.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	256
5.4.2.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	256
5.4.2.4.- Área bajo la curva y biodisponibilidad	257
5.4.3.-Estudio de ciprofloxacino, metabolito activo de Enrofloxacino, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25%(SC-1)+ carboximetilcelulosa al 2%(SC2)	257
5.4.3.1.- Parámetros farmacocinéticos	258
5.4.3.1.1- Tiempos de vida media, MRT y MAT	258
5.4.3.1.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	260

5.4.3.1.3.- Área bajo la curva	261
5.5.- Comparación entre administraciones	262
5.5.1.- Tiempo de vida media ($t_{1/2\lambda,z}$)	262
5.5.2.- Tiempo medio de residencia (MRT)	263
5.5.3.- Constante de absorción (k_a)	264
5.5.4.- Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$) y concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$)	265
5.5.5.- Tiempo medio de absorción (MAT)	267
5.5.6.- Área bajo la curva (AUC)	268
5.5.7.- Biodisponibilidad (F)	270
5.6.- Comparación entre administraciones (Ciproloxacino)	271
5.6.1.- Tiempo de vida media ($t_{1/2\lambda,z}$)	271
5.6.2.- Tiempo medio de residencia (MRT)	272
5.6.3.- Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$) y concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$)	273
5.6.4.- Área bajo la curva (AUC)	275
5.7.- Estudio farmacocinético de la excreción en leche de enrofloxacino y su metabolito activo ciprofloxacino	276
5.7.1.- Evolución de las concentraciones de enrofloxacino y ciprofloxacino en leche: administración intravenosa de enrofloxacino.	276
5.7.1.1.- Tiempo medio de residencia (MRT)	278
5.7.1.2.- Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$) y concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$)	278
5.7.1.3.- Área bajo la curva (AUC) y ratio AUC_{leche}/AUC_{plasma}	279
5.7.1.4.- Cantidad total de enrofloxacino y ciprofloxacino eliminada en leche	280

5.7.2.- Evolución de las concentraciones de enrofloxacin y ciprofloxacino en leche: administración subcutánea de enrofloxacin	281
5.7.2.1.- Tiempo medio de residencia (MRT)	283
5.7.2.2.- Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$) y concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$)	284
5.7.2.3.- Área bajo la curva (AUC) y ratio AUC_{leche}/AUC_{plasma}	285
5.7.2.4.- Ratio $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$	285
5.7.2.5.- Cantidad total de enrofloxacin y ciprofloxacino eliminada en leche	
286	
5.7.3.- Evolución de las concentraciones de enrofloxacin y ciprofloxacino en leche: administración subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1)	286
5.7.3.1.- Tiempo medio de residencia (MRT)	289
5.7.3.2.- Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$) y concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$)	289
5.7.3.3.- Área bajo la curva (AUC) y ratio AUC_{leche}/AUC_{plasma}	290
5.7.3.4.- Ratio $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$	292
5.7.3.5.- Cantidad total de enrofloxacin y ciprofloxacino eliminada en leche	
292	
5.7.4.- Evolución de las concentraciones de enrofloxacin en leche: administración subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2)	293
5.7.4.1.- Tiempo medio de residencia (MRT)	295
5.7.4.2.- Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$) y concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$)	295
5.7.4.3.- Área bajo la curva (AUC) y ratio AUC_{leche}/AUC_{plasma}	296
5.7.4.4.- Ratio $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$	297
5.7.4.5.- Cantidad total de enrofloxacin y ciprofloxacino eliminada en leche.	
297	

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 su metabolito, ciprofloxacino.

297

5.8.1.- Área bajo la curva (AUC)	298
5.8.2.- Tiempo medio de residencia (MRT)	298
5.8.3.- Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$) y concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$)	299
5.9.- Integración farmacocinética/farmacodinámia	301
6.- CONCLUSIONES	306
7.- RESUMEN	311
8.- SUMMARY	214
9.- BIBLIOGRAFÍA	316
10.- ABREVIATURAS	

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.

En las especies animales de producción de alimentos, los antimicrobianos y antiparasitarios son, sin duda, fármacos utilizados 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 antibacterianos 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.

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, 2000).

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 enrofloxacin 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).

La farmacocinética de enrofloxacin ha sido estudiada en distintas especies animales, entre ellas caballo (Peyrou y cols., 2006; Papich y cols., 2002; Haines y cols., 2000), búfalo (Kumar y cols., 2003), cerdo (Rahal y cols., 2006; Anadon y cols., 1999; Richez y cols., 1997b) Pijpers y cols., 1997), vaca (Idowu y cols., 2010; Rantala y cols., 2002; Richez y cols., 1994; aldowu y cols., 2010), cabra (Elsheikh y cols., 2002; Rao y cols., 2000 y 2002; Elmas y cols., 2001), ovejas (Otero y cols., 2009; Haritova y cols., 2003; Elsheikh y cols., 2002; Bermingham and Papich, 2002; Bregante y cols., 1999; Mengozzi y cols., 1996; Pozzin y cols., 1997), conejos (Elmas y cols., 2008, 2007, 2006; Bregante y cols., 1999; Aramayona y cols., 1996), perros (Monlouis y cols., 1997; Küng y cols., 1993; Cester & Toutain 1997), gatos (Richez y cols., 1997a), monos (Sekkin y cols., 2009), llama (Christensen y cols., 1996; Kreil y cols., 2001), ratas y ratones (Bregante y cols., 1999).

En lo que a animales de producción se refiere, cuando se administran fármacos a una gran majada, la velocidad de administración, la mínima manipulación y el daño limitado, son consideraciones importantes. Los métodos preferidos son la inyección SC, la dosis oral o la incorporación en pienso y agua, también suelen utilizarse infusiones intramamarias. Por otro lado, la liberación controlada 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 controlada 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 controlada 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).

Se han estudiado formulaciones de liberación controlada en varias quinolonas, como levofloxacin (Yin y cols., 2011), ciprofloxacino (Fulzele y cols., 2007; Waknis y Jonnalagadda, 2011), moxifloxacino (Cárceles y cols., 2006), difloxacino (Marín y cols., 2010a; Escudero y cols., 2011), ofloxacino (Bahk y cols., 2000), enrofloxacino (Cabanés y cols., 1995; Xie y cols., 2011) y feroxacin (Dounis y cols., 1996). Por vía oftálmica, levofloxacino (Gupta y cols., 2010a), ciprofloxacino (Jain y cols., 2010), ofloxacino (Abraham y cols., 2009), gatifloxacino (Ibrahim y cols., 2010), sparfloxacino (Gupta y cols., 2010b; Nesseem y cols., 2011) y pefloxacino (Sultana y cols., 2006).

Cuando el fármaco se administra por vía parenteral, la absorción puede modificarse mediante la formación de complejos disociables 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 controlada. 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.

La importancia del ganado ovino es cada vez mayor en el sector agroalimentario por diferentes motivos. Por un lado las razas lecheras dan producciones importantes sin estar sujetas a restricciones por parte de la Unión Europea (cuotas lecheras). Por otro, su carne no despierta el recelo que despierta la del bovino a causa de la meningitis espongiiforme. Además, representan un factor económico de primer nivel en algunas zonas de España por la importancia de la industria alimentaria del queso.

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 ovino lechero de la cuenca mediterránea. Supone además, el principal problema en los planes de control de mamitis y está causada principalmente por *Mycoplasma Agalactie*, aunque pueden intervenir otros micoplasmas, como *Mycoplasma Mycoides*, *Mycoplasma Capricolum*, y otros gérmenes como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermitis* (Corrales y cols., 1997).

Considerando todo lo expuesto hasta el momento, y dada la importancia de la oveja 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 ovino.
2. Determinación de los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacino y ciprofloxacino tras su administración subcutánea, en solución del polímero P407 al 25% y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, en ovino.
3. La determinación, y cuantificación, de la eliminación de enrofloxacino y su metabolito ciprofloxacino en la leche, dependiendo de la vía de administración y la formulación empleada, así como sus perfiles cinéticos correspondientes.

4. Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de enrofloxacin frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de ovejas procedentes de granjas comerciales, como germen representativo de procesos infecciosos mamarios en la especie a estudiar.
5. Establecimiento de los parámetros farmacocinéticos-farmacodinámicos de enrofloxacin 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 4-quinolonas, también denominadas análogos o derivados del ácido nalidíxico, o simplemente quinolonas, deben su nombre al oxígeno exocíclico en posición 4 (Appelbaum y Hunter, 2000) y a la palabra “quinolona”, la cual es una transformación del término 4-oxo-1,4-dihidroquinoleína, estructura común de los derivados de la quinoleína. Estos antimicrobianos constituyen un grupo heterogéneo de quimioterápicos de síntesis y se usan desde hace más de 40 años (Dámaso, 1990).

Desde un punto de vista histórico su comienzo tuvo lugar en 1949, año en el que Price obtuvo por degradación de alcaloides, el ácido 1-metil-4-quinolon-3-carboxílico, una molécula sin actividad biológica, a la que denominó quinolona. Posteriormente se sintetizaron compuestos similares, algunos con poder antibacteriano, pero sin aplicación clínica (Gobernado y Santos, 2002).

El primer compuesto introducido en terapéutica en el año 1962, por Leshner y cols., fue el ácido nalidíxico, derivado de síntesis del grupo de las 1,8-naftiridinas y descubierto de manera fortuita mientras se desarrollaba la síntesis de la cloroquina (compuesto antipalúdico). El ácido nalidíxico fue la primera quinolona útil para el tratamiento de infecciones localizadas en las vías urinarias, debido a su elevada concentración en orina (Fernández, 1988) En 1968, Turner y cols., sintetizan el ácido oxolínico. Más tarde, en 1971, Shimizu y cols. comunican la síntesis del ácido piromídico y en 1973, Wick y cols., publican la obtención de cinoxacino.

La introducción de una cadena lateral piperazinil en posición 7, a partir de la cual surgió el ácido piperámico o pipemídico, sintetizado por Shimizu y cols., en 1975, mejoró su actividad frente a gram positivos, ampliando el espectro incluso frente a *Pseudomonas* spp (Dámaso, 1990; Shimizu, 1975). Los quimioterápicos, ácido nalidíxico, enoxacino, ácido oxolínico, ácido piromídico, ácido piperámico o pipemídico y cinoxacino se emplearon preferentemente como antisépticos urinarios, intestinales y biliares, en virtud de su actividad primariamente bacteriostática y de su espectro fundamentalmente restringido a bacilos gram negativos (Dámaso, 1990).

Varios aspectos han limitado la utilización sistémica del ácido nalidíxico y las primeras 4-quinolonas (Abelson y Hallas, 2003; Appelbaum y Hunter, 2000; Gobernado y Santos, 2002; Emmerson y Jones, 2003; Stockley, 2004):

- Pobre absorción tras la administración por vía oral.

- Limitado espectro antimicrobiano (modesta actividad frente a Gram positivos ni *Pseudomonas aeruginosa*), que provocó un uso restringido al tratamiento de las infecciones del tracto urinario, en el cual se encontraban altas concentraciones de fármaco.
- Corta semivida y alta unión a proteínas.
- Rápida aparición de resistencias
- Toxicidad a nivel del Sistema Nervioso y gastrointestinal.

En el desarrollo de nuevas quinolonas, el primer paso adelante se produjo al incorporar desde uno hasta tres átomos de flúor en la molécula 7-piperazino-4-quinolona, dando lugar a las denominadas fluoroquinolonas, obteniendo un espectro de acción más amplio y una mayor actividad antibacteriana que sus antecesores (ácidos nalidíxico, oxolínico, piromídico, pipemídico, cinoxacino y acroxacino).

La mejora de las características farmacocinéticas tras la introducción de un átomo de flúor en posición 6 y un anillo piperacínico en posición 7 en 1980, dió lugar a aumento en la absorción vía oral, un aumento en la distribución tisular y mejoras en el espectro antimicrobiano, siendo activos frente a *Pseudomonas aeruginosa* y cocos Gram positivos(Ball,2000).

Existe un antecedente, -la flumequina-, sintetizada en 1973, con un átomo de flúor en su estructura, pero que no goza de las características farmacocinéticas de las nuevas fluoroquinolonas. Presentaba indicios de actividad frente a Gram positivos (Spelbaum y Hunter, 2000) y presentaba actividad frente a Enterobacterias, y gonorrea no complicada (Emmerson y Jones, 2003).

El desarrollo de la primera fluoroquinolona, el norfloxacin, con átomos sustituyentes 6-fluorina y 7-piperacina, demostró una mejorada actividad antibacteriana frente a gram negativos y gram positivos, incluso frente a *Pseudomonas aeruginosa* y estafilococos respectivamente (Abelson y Hallas, 2003; Andriole, 1989; Dámaso, 1990).

Aunque desde el ácido nalidíxico hasta el norfloxacin pasaron cerca de dos décadas, la siguiente fase de investigación se desarrolló muy rápidamente. Norfloxacin fue patentado en 1978, y tres años más tarde se patentaron muchas más fluoroquinolonas nuevas, de las cuales, algunas fueron rechazadas en el mercado, aunque otras todavía hoy se comercializan: pefloxacin (patentada en 1979), enoxacin (1980), fleroxacin (1981), ciprofloxacino (1981) y ofloxacino (1982). Las ventajas de estos compuestos residen en un espectro que incluye tanto

especies bacterianas pertenecientes a gram positivos, como a gram negativos, y en una buena absorción vía oral, proporcionando niveles adecuados en plasma. A partir de estas moléculas, las quinolonas pasaron a ser utilizadas en infecciones sistémicas. Si bien, y pese a las mejoras introducidas, algunas especies, concretamente *Staphylococcus aureus* y *P. aeruginosa*, mostraron resistencia a este grupo de quimioterápicos (Appelbaum y Hunter, 2000; Emmerson y Jones, 2003).

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 *S. 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.

Por tanto, los siguientes compuestos comercializados fueron dirigidos hacia la consecución de estos objetivos. Así, en este grupo se encuentran esparfloxacino, levofloxacino y grepafloxacino, que mejoraron el perfil farmacocinético y la actividad frente a anaerobios y gram positivos (particularmente el neumococo), pero aunque poseen 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 compuesto por clinafloxacino, gatifloxacino, gemifloxacino, moxifloxacino, sitafloxacino y

trovafloxacin. 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).

Pero en su desarrollo no todo han sido avances, en 1999, trovafloxacin fue retirado del mercado mundial debido a la descripción de varios casos de hepatotoxicidad fulminante, y grepafloxacin se retiró por cardiotoxicidad (Emmerson y Jones, 2003). Enoxacin, pefloxacin y fleroxacin presentan fototoxicidad, temafloxacin se asoció a severos síndromes urémicos-hemolíticos y lomefloxacin causa fototoxicidad y efectos sobre SNC, y por ello fue retirado del mercado. Esparfloxacin se asoció a fototoxicidad y prolongación del intervalo QTC. Tosufloxacin causa severa trombocitopenia y nefritis y por último clinafloxacin se asoció a fototoxicidad e hipoglucemia (Rubinstein, 2001; Fish, 2001; Mandell y cols., 2001).

En definitiva, se han desarrollado un gran número de quinolonas, pero su uso se restringe a un número reducido de compuestos, ya sea por su espectro de actividad, por sus reacciones tóxicas, por su farmacocinética o por razones comerciales.

En el ámbito veterinario, este grupo de antimicrobianos ha sufrido un gran desarrollo y expansión, apareciendo diferentes fluoroquinolonas registradas exclusivamente para Medicina Veterinaria. Así encontramos: marbofloxacin, orbifloxacin, enrofloxacin, pradofloxacin, difloxacin e ibafloxacin (AEMPS, 2012; EMA, 2012).

Las fluoroquinolonas se utilizan ampliamente para un importante número de infecciones en caninos, felinos, equinos, bovinos, ovinos, caprinos, 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 cols., 2002b).

2.2 ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN

2.2.1.- ESTRUCTURA QUÍMICA

Las 4-quinolonas son ácidos orgánicos con un pK_a elevado y, en general, comparten un núcleo común: la estructura bicíclica 4-oxo-1,4-dihidroquinoleína, o 4-quinolona, compuesta de dos anillos, uno de tipo piridona, con un ácido carboxílico libre en posición 3 y un átomo de nitrógeno en posición 1, y un segundo anillo aromático (Gobernado y Santos, 2002).

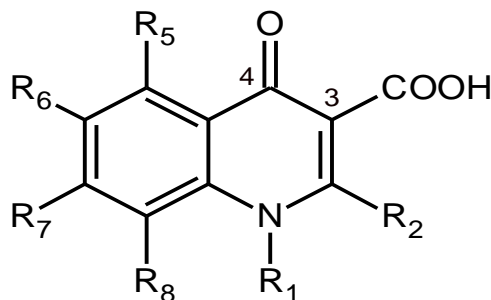


Figura 1.- Estructura básica o núcleo de las quinolonas.

2.2.2.- CLASIFICACIÓN

Desde un punto de vista químico, las quinolonas pueden clasificarse en cuatro grupos: sustancias sintéticas de estructura naftiridínica (ej: ácido nalidíxico y enoxacino), quinolónica (ej: ácido oxolínico), pirimidínica (ej: ácido piromídico, ácido piperámico o pipemídico) o cinolónica (cinoxacino) (Dámaso, 1990).

De esta forma, se puede establecer una clasificación de las quinolonas en base a las diferentes estructuras químicas y a la aparición de estos quimioterápicos en el mercado (Gobernado y Santos, 2002):

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.
 - 4.2.- Monofluoroquinolonas: Flumequina.
- **II.- SEGUNDA GENERACIÓN** (derivados de la quinoleína)
 - 1.- Monofluoroquinolonas:
 - Amifloxacino.
 - Ciprofloxacino.
 - Irloxacino 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): Esparfloxacino.

- 3.- Trifluoroquinolonas (derivados de la naftiridina): Tosufloxacinó.

IV.- CUARTA GENERACIÓN (derivados de la quinoleína)

- 1.- Monofluoroquinolonas: Clinafloxacinó, Moxifloxacinó.

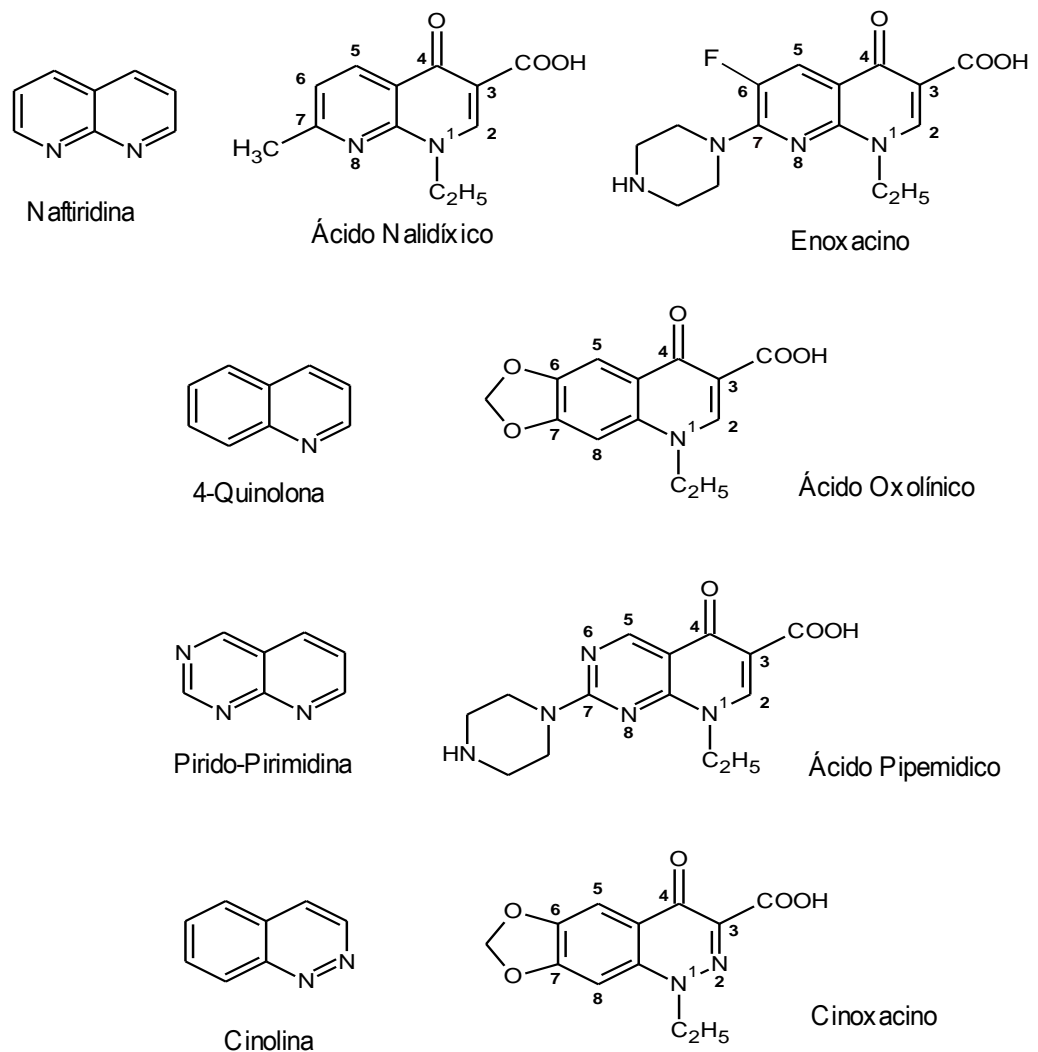


Figura 2.- Estructuras básicas de las quinolonas.

CARACTERÍSTICAS DE LOS GRUPOS DE QUINOLONAS:

- **Primera generación** (Figura 3): moléculas históricamente más antiguas y que definen los núcleos básicos de estos antimicrobianos. Estructuralmente se

caracterizan, en su mayoría, por la ausencia de un sustituyente 6-fluoro, con excepción de flumequina o enoxacino, y por no presentar la asociación de 6-fluoro con el grupo piperazina en posición C7 (presente en el ácido pipemídico y en enoxacino).

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).

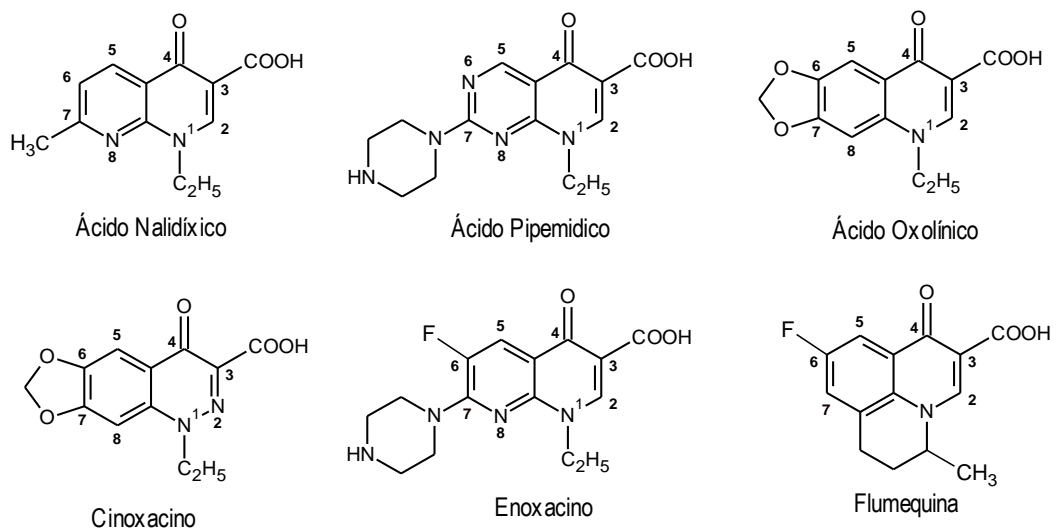


Figura 3.- Principales quinolonas de primera generación.

- Segunda generación** (Figura 4): se caracterizan por la presencia de un átomo de flúor en la posición 6, que aumenta la afinidad por su lugar de acción, (topoisomerasas tipo II) y aumenta 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 una piperazina o metilpiperazina (diamida cíclica) en la posición 7 del núcleo quinolónico (Tálens-Visconti y cols., 2002). La molécula estándar de esta generación es norfloxacino. A todas ellas

se las conoce normalmente como *fluoroquinolonas*. Clínicamente presentan mayor potencia, amplio espectro antimicrobiano, buenas propiedades farmacocinéticas, menor 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 rickettsias. 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 metilina (SAMR) rápidamente se estableció resistencia (Schaefer, 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).

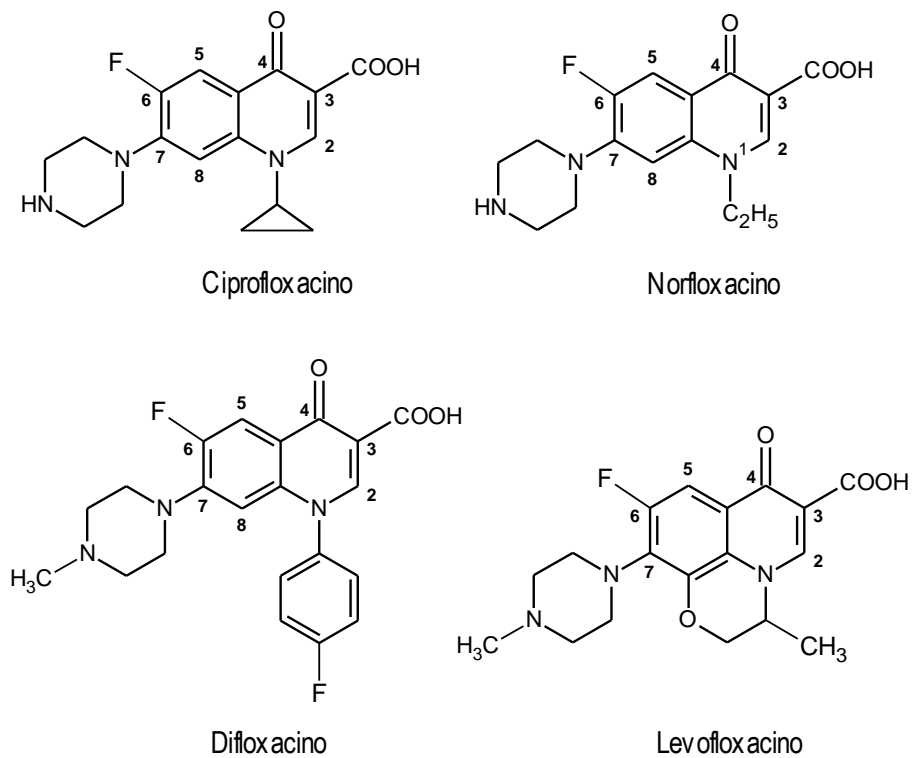


Figura 4.- Principales quinolonas de segunda generación.

- **Tercera generación** (Figura 5): químicamente caracterizadas por la presencia de grupos cíclicos aminados en C7, siendo frecuentes la presencia de aminopirrolidinas y grupos azabicyclo, 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). Sin embargo, algunas de ellas fueron retiradas del mercado, después de aprobada su comercialización o se harestringido su uso por sus efectos tóxicos (esparfloxacino, grepafloxacino) (Tálens-Visconti y cols., 2002).

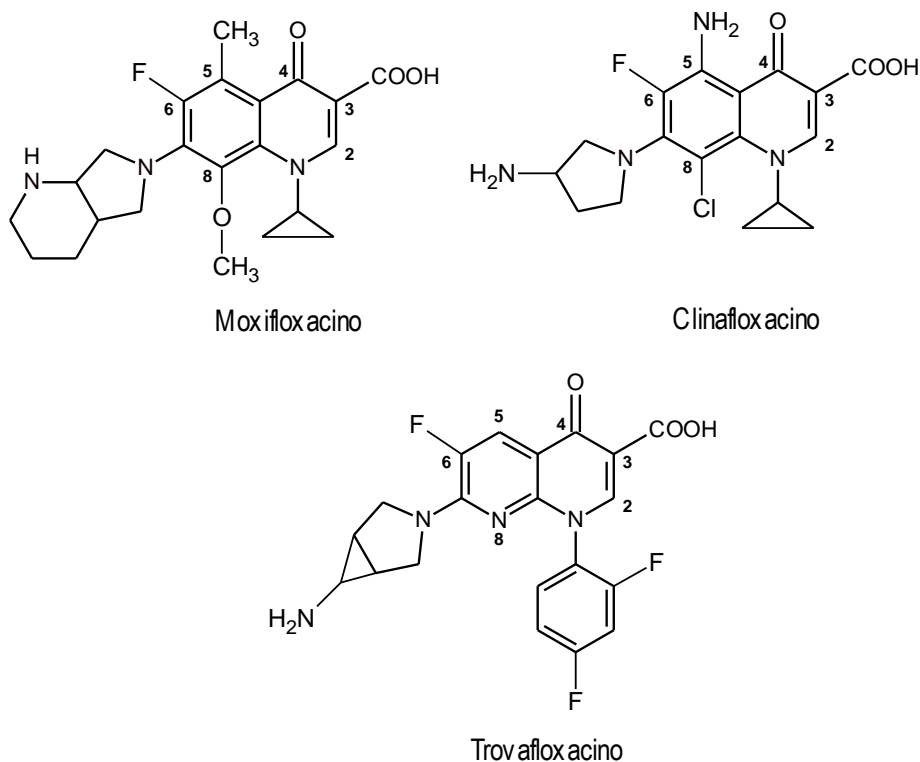


Figura 5.- Principales quinolonas de tercera generación.

- **Cuarta generación** (Figura 6): presentan mayor actividad contra gérmenes anaerobios, 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, que se ha demostrado en animales de experimentación, lo cual posibilitaría su aplicación en el tratamiento de ciertos procesos tumorales (Tálens-Visconti y cols., 2002).

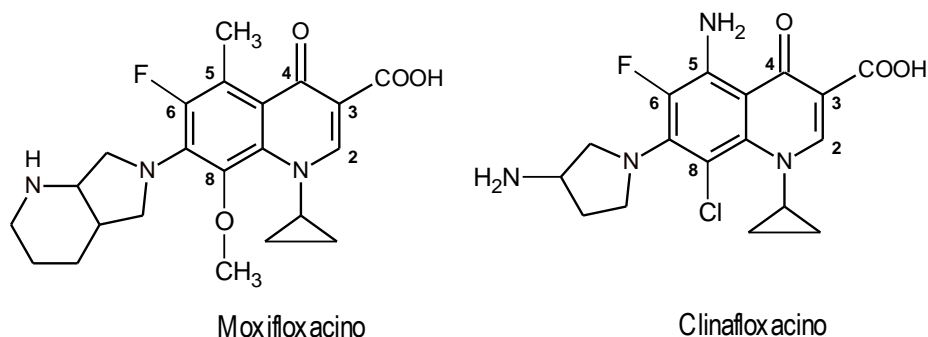


Figura 6.-Principales quinolonas de cuarta generación.

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, así como por su acción sobre dianas de procariontas y eucariontas.

Se han desarrollado nuevas estructuras como las 6-desfluorquinolonas, sin átomo de flúor en posición 6, el cuál 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 fluoroquinolona 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 ACTIVIDAD

Las fluoroquinolonas han experimentado una serie de cambios evolutivos muy significativos en la práctica clínica desde su introducción, hacia finales de 1980. Está disponible una gran cantidad de información acerca de los efectos en la actividad, farmacocinética, interacciones y reacciones adversas provocados por modificaciones estructurales en el núcleo y en los sustituyentes de las moléculas de fluoroquinolonas (Appelbaum y Hunter, 2000; Gobernado y Santos, 2002).

La estructura común a todos ellos, que parece necesaria para su actividad, y que por tanto no sufre modificaciones (su farmacóforo), contiene un nitrógeno trisustituido en la posición 1, un carbonilo en 4, un grupo carboxilo en 3 y un segundo ciclo condensado con este anillo de 4-piridona (Espada y Avendaño, 1993). Se cree que el ácido carboxílico en posición 3 y el oxígeno exocíclico en posición 4 conforman la porción de la molécula que se une a la ADN girasa bacteriana y que resulta esencial para el transporte intrabacteriano del antibiótico, por consiguiente, es vital no interferir en esta zona. La posición 2 está muy cercana al lugar de unión, por tanto, para no modificar la estereoquímica de la molécula a este nivel, las sustituciones en esta posición no se deben realizar con grupos voluminosos, además las modificaciones que se han realizado en esta posición no han supuesto un gran éxito.

La mejor actividad antibacteriana y el mayor espectro corresponden, para la mayoría de las quinolonas, a la incorporación de un átomo de flúor en la posición 6 de la molécula, y de un grupo piperacínico heterocíclico en la posición 7 (Appelbaum y Hunter, 2000; Gobernado y Santos, 2002). Estas modificaciones, como ya se ha comentado anteriormente, se introdujeron por primera vez con norfloxacin, y produjeron un verdadero avance en la terapéutica (Appelbaum y Hunter, 2000).

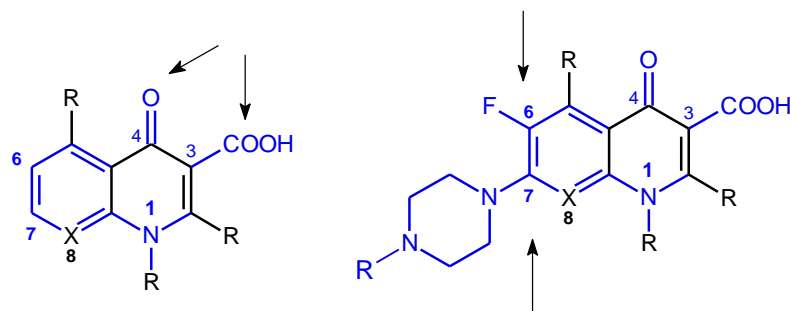


Figura 7.- Estructura común en el núcleo y sustituyentes que mejoran la actividad antibacteriana.

Actualmente, las diferentes estructuras de las 4-quinolonas comercializadas presentan espectro antibacteriano y características farmacocinéticas diferentes en función de las sustituciones realizadas en las posiciones de la molécula 2,4-dihidroquinoleína. Estas propiedades derivadas de las diferentes sustituciones son descritas en la tabla 1 (Appelbaum y Hunter (2000), Domagala (1994) y Gobernado y Santos (2002)).

Posición	Efecto en el espectro y características farmacocinéticas del fármaco
1	<p>La adición de una cadena lateral a través del nitrógeno, determina la estabilidad de la molécula y la potencia antibacteriana.</p> <p>-<u>Grupo etilo</u>: ácido nalidíxico, ácido pipemídico, norfloxacin, etc.; aumenta la estabilidad de la molécula.</p> <p>-<u>Grupos voluminosos</u>: mejora la actividad frente a gram positivos y gram negativos. Pej: grupo ciclopropil provoca buena actividad contra gram negativos (ciprofloxacino, esparfloxacino, grepafloxacino, clinafloxacino, moxifloxacino, gatifloxacino y gemifloxacino). El radical tert-butilo asociado a un metoxi en posición 8 aumenta la actividad frente a micobacterias (Renal y cols., 1996)</p> <p>-<u>Con un anillo 2,4-difluoropentil</u>:temafloxacino, tosufloxacino y trovafloxacino, aumenta éste último su actividad frente a gram positivos.</p> <p>En el caso de enrofloxacin el anillo es de tipo ciclopropil, que confiere a la</p>

	<p>molécula ventajas farmacocinéticas como un mayor tiempo de eliminación y un mayor volumen de distribución aparente y mejora la actividad frente a gram negativos.</p>
2	<p>Radical pequeño por su cercanía al lugar de unión a las topoisomerasas(R3 y R4)</p> <p>-<u>Carbono unido a Hidrógeno (C-H)</u>: presente en casi todas las quinolonas, también en el enrofloxacin.</p> <p>-<u>Sustitución por un átomo de Nitrógeno</u>: en cinoxacino, disminuye la actividad.</p> <p>-<u>Sustitución por un átomo de Azufre</u>: no desarrollados.</p>
3 y 4	<p>Grupos esenciales para la actividad antibacteriana (carboxilo y ceto respectivamente) necesarios para el transporte en el interior de la bacteria y la unión a las topoisomerasas. Por ello no modificables.</p>
5	<p>La sustitución en esta posición está orientada a incrementar la actividad contra gram positivos pero está muy influenciada por la sustitución en otras posiciones(Appelbaum y Hunter, 2000).</p> <p>-<u>Grupos voluminosos</u> reducen mucho la actividad, posiblemente por interferencias con el sitio activo de unión en 3-4. (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).</p> <p>-<u>Otros sustituyentes</u> empleados en posición 5 y que mejoran la actividad contra gram positivos son R = CH₃ (como en grepafloxacin,) o R = NH₂ (como en esparfloxacin) y frente a toxoplasma gondii (Yoshida y cols., 1996).</p>
6	<p>-El átomo de flúor en el C₆, o en el C₉, dependiendo de si la quinolona es bicíclica o tricíclica, controla la unión y efectos sobre el complejo ADN-girasa y la penetración intrabacteriana, aumentando notablemente la potencia, y fue el punto más importante en el desarrollo de las nuevas quinolonas. En el enrofloxacin hay un átomo de flúor en posición 6.</p> <p>-<u>El átomo de hidrógeno</u> en el C₆ dió lugar a las 6-desfluoroquinolonas (Ledoussal y cols., 1999) como el garenoxacin que mejoran considerablemente la actividad frente a gram positivos y un poco sobre gram negativos y patógenos atípicos.</p>

	<p>-<u>Las 6-amino, 8-metilquinolonas</u>, que aumentan la actividad frente a gram positivos</p>
7	<p>Esta posición interactúa directamente con la DNA-girasa y por ello sustituyentes en C₇, controlan la farmacocinética, el espectro y la potencia antibacteriana.</p> <p>-<u>Anillos heterocíclicos de 5 ó 6 elementos</u>, como piperacina, aumentan la potencia sobre gram negativos, y como pirrolidina, la aumentan sobre gram positivos (Peterson, 2001)</p> <p><u>1.-Compuestos con un anillo piperacina</u>: Norfloxacinó, enoxacino y ciprofloxacino, poseen el anillo no sustituido, mientras que grepafloxacino, lomefloxacino y fleroxacino presentan un anillo 3-metilpiperacina. Ofloxacino y levofloxacino poseen una 4-metilpiperacina, y esparfloxacino tiene una 3,5-dimetilpiperacina, enrofloxacino tiene una 4-metilopiperazin-1-il. Estas sustituciones en la piperacina suponen mayor actividad contra gram positivos, y pueden aumentar la penetración a través de la pared celular (Piddols y cols, 1998)</p> <p><u>2.-Compuestos con un anillo pirrolidina</u>: Las aminopirrolidinas también aumentan la actividad antibacteriana, generalmente la mejoran frente a gram positivos, aunque esta actividad disminuye si el anillo no contiene el grupo amino. Tosufloxacino y clinafloxacino tienen un anillo 3-aminopirrolidina. Sitafloxacino un grupo 3-amino-4-ciclohexil, y gemifloxacino posee un grupo aminometilo y un sustituyente 4-metiloximino. Todos ellos tienen una excelente actividad frente a gram positivos (Appelbaum y Hunter, 2000).</p>
8	<p>La sustitución en esta posición afecta a la estructura tridimensional de la molécula y por tanto a su afinidad frente a las topoisomerasas, así como modifica las propiedades farmacocinéticas y a la actividad antibacteriana, particularmente frente a especies anaerobias.</p> <p>-<u>Nitrógeno</u> en lugar de un carbono en el anillo: las naftiridonas (enoxacino, tosufloxacino, trovafloxacino y gemifloxacino).</p> <p>-<u>Halógenos (cloro y flúor)</u>: favorecen la actividad antibacteriana pero son poco estables frente a los rayos ultravioleta y presentan mayor índice de fototoxicidad (esparfloxacino, fleroxacino y lomefloxacino). Por ello, lomefloxacino ha sido retirado</p>

<p>y se ha limitado el uso de esparfloxacino y fleroxacino. Presentan mayor afinidad sobre la DNA-girasa.</p> <p>-Un grupo metoxi o metilo confiere una buena actividad contra anaerobios, E. coli resistente y Mycobacterium tuberculosis y parece no acompañarse de fototoxicidad (moxifloxacino y gatifloxacino) (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004; Zhao y cols., 1999). Este grupo junto con las 4-naftiridonas parecen actuar indistintamente sobre ambas topoisomerasas.</p> <p>-La presencia de un puente entre los radicales N1 y C8 (benzoxacinas, ofloxacino y levofloxacino parecen tener como diana la topoisomerasa IV.</p> <p>-Otra posibilidad es <i>no sustituir</i> ésta posición (norfloxacino, pefloxacino, ciprofloxacino y grepafloxacino): parece tener como diana la topoisomerasa IV.</p>
--

Tabla 1.- Propiedades derivadas de las diferentes sustituciones en las fluoroquinolonas (Appelbaum y Hunter (2000), Domagala (1994) y Gobernado y Santos (2002).

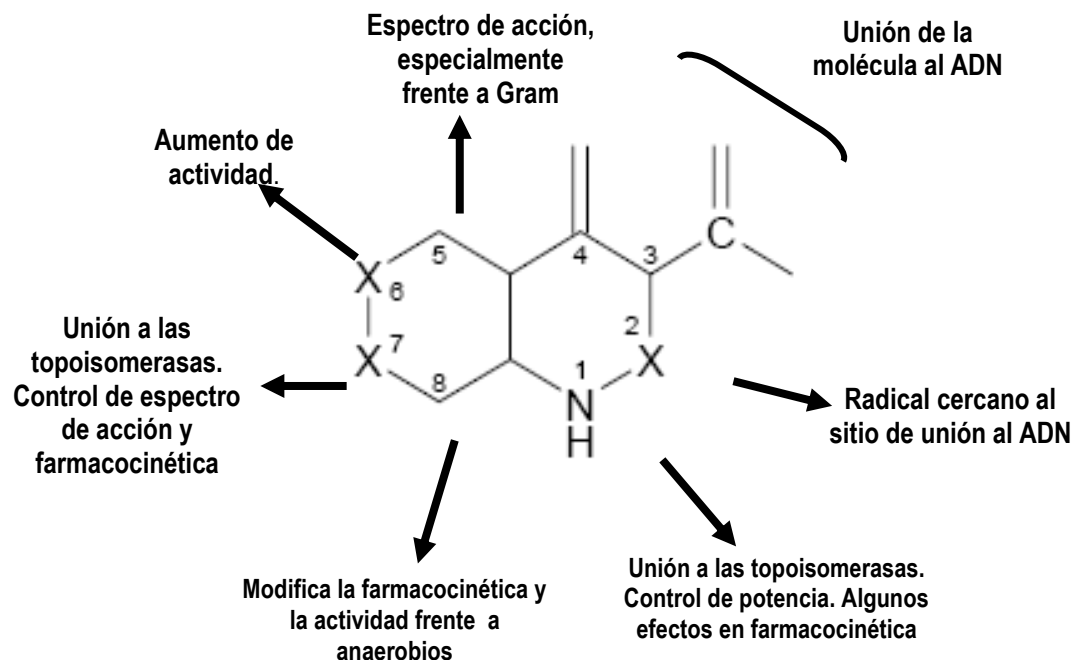


Figura 8.- Relación estructura y actividad de la molécula de quinolona.

En la figura n°8 se representa la estructura de la molécula básica de las quinolonas y se detallan las relaciones entre las distintas posiciones de los sustituyentes y la actividad de la molécula frente a distintos microorganismos y el lugar de interacción con la diana de acción.

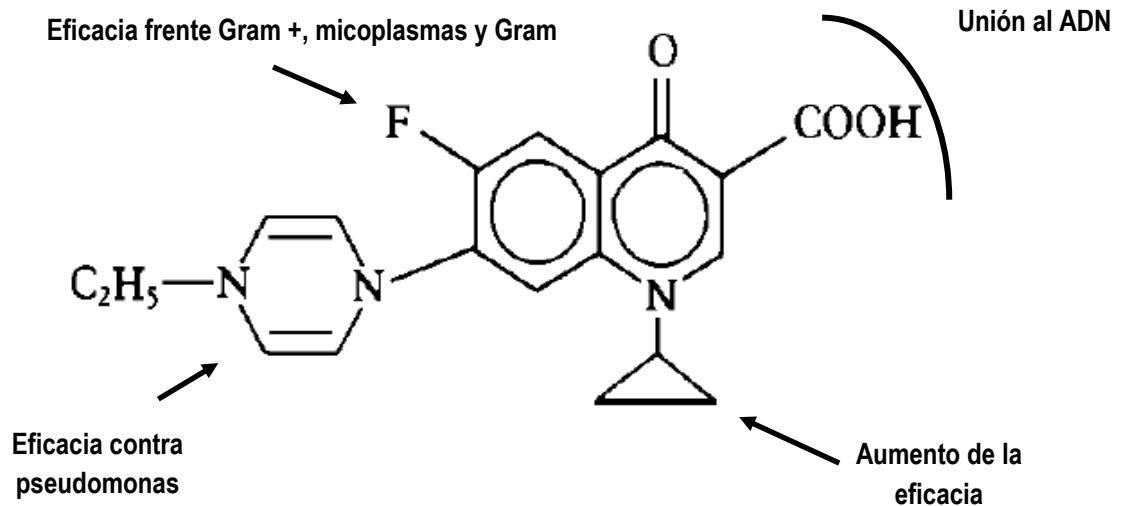


Figura 9.—Relación estructura y actividad de la molécula de Enrofloxacin.

La molécula de enrofloxacin (Figura 9) o ácido 1-ciclopropil-7-(4-etil-1-piperacínil)-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico, es una fluorquinolona derivada del ácido nalidíxico, con un núcleo básico dihidroquinolina ó anillo 4-quinolónico (Otero y cols., 2001a). Es una fluorquinolona desarrollada únicamente con fines veterinarios.

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 quinolonas 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 quinolonas 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 aumentar en plasma la concentración, haciéndose que se alcance el doble de concentración de enrofloxacin que de ciprofloxacino, quinolona con estructura parecida al enrofloxacin pero sin este grupo etilo (Sumano, 1993; Otero y cols., 2001a).

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 en solvente orgánico, soluble en soluciones ligeramente alcalinas o ácidas y termorresistentes, por lo que pueden esterilizarse en autoclave. Son ácidos orgánicos con un pK_a elevado (Gobernado y Santos, 2002), fotosensibles y muy estables a temperatura ambiente, sin pérdidas apreciables de su actividad, ni de sus propiedades físico-químicas al cabo de dos años (Dámaso, 1990).

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).

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 2) se muestran constantes de ionización de algunas quinolonas, medidas a través de métodos espectrofotométricos y cromatográficos (Martínez y cols., 2006).

QUINOLONAS	pK_{a1}	pK_{a2}
Ciprofloxacino	6,0	8,8
Difloxacino	6,1	7,6
Enoxacino	6,0	8,5
Enrofloxacino	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
Marbofloxacino	5,7	8,0

Tabla 2.- Constantes de ionización de diferentes quinolonas.

pKa₁: constante de ionización del grupo 3-carboxílico

pKa₂: constante de ionización del grupo N-4 piperazínico

El enrofloxacino 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 enrofloxacino 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).

Las fluoroquinolonas poseen un grupo carboxílico de carácter ácido y un grupo amino de carácter básico y por tanto son moléculas anfóteras (Otero y cols., 2002). Con algunas excepciones, las fluoroquinolonas 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 (Figura 10):

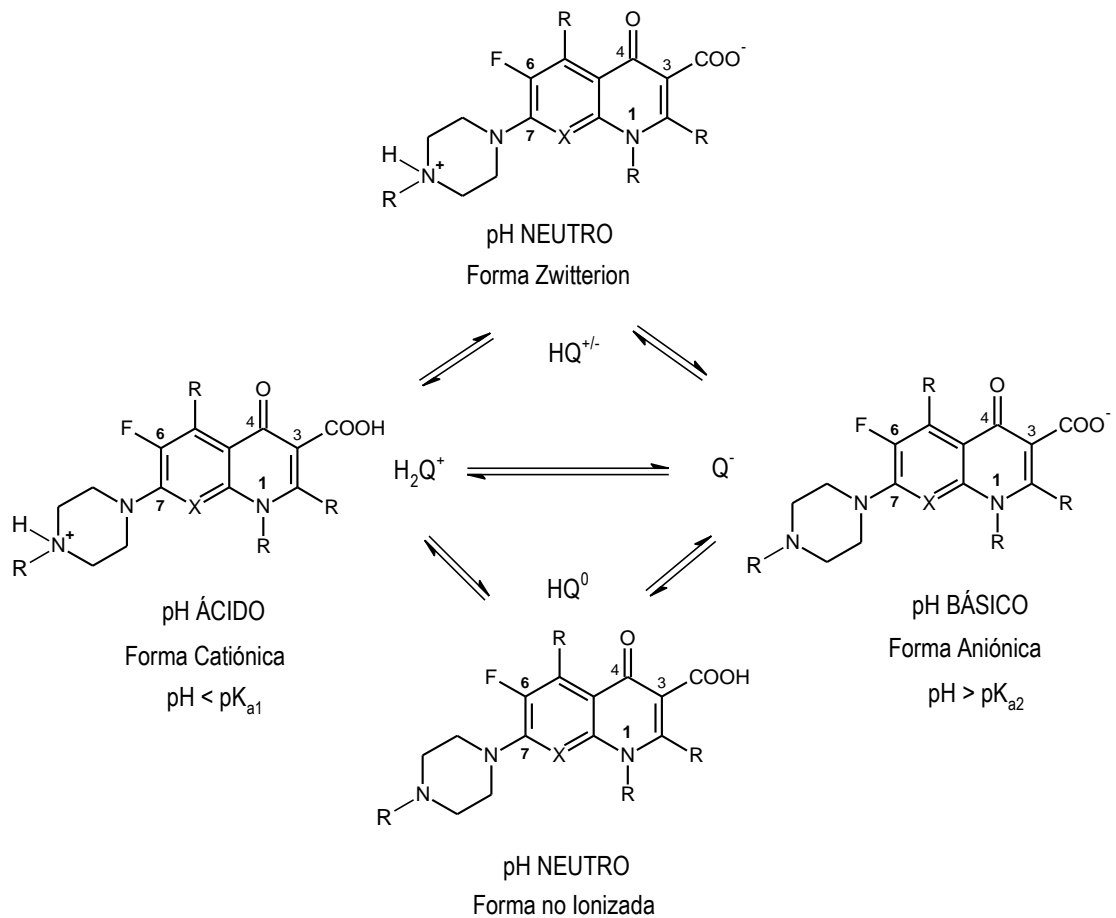


Figura 10.- Equilibrios de ionización para las fluoroquinolonas en función del pH extracelular.

Así, a pH por debajo de pK_{a1} las quinolonas presentan carga positiva, mientras que a pH por encima de pK_{a2} tienen carga negativa. Valores bajos de pK_a determinan el rango de pH dentro del cual estos antibacterianos 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 no ionizada que les permite difundir pasivamente a través de la membrana plasmática en mayor o menor grado (Otero 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 betaína o a veces en forma de sal de hidrocioruro (Merck Veterinary Manual, 1998).

El enrofloxacino presenta una solubilidad acuosa baja en la proximidad de su punto isoeléctrico, pero una elevada solubilidad lipídica, lo cual facilita su difusión dentro de tejidos biológicos, incluyendo células bacterianas.

Por otro lado, se ha demostrado en estudios previos, que el coeficiente de reparto octanol/agua, P_{app} , tiene influencia sobre las concentraciones del fármaco dentro de los microorganismos. De forma que en Gram positivos, cuanto mayor sea P_{app} (más liposoluble) más concentración se alcanza dentro de la bacteria, sin embargo, en Gram negativos la concentración de fármaco aumenta cuanto menor sea P_{app} (menos liposoluble) (Pidcock, 1999).

El coeficiente de partición octanol/agua para enrofloxacino es elevado y presenta su valor máximo a pH 7. Los coeficientes de partición disminuyen por encima o por debajo de dicho valor, indicando una elevada polaridad del enrofloxacino (Lizondo y cols., 1997).

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 mismo (I/E). En las fluoroquinolonas, este cociente oscila entre 2 y 28, dependiendo del tipo de célula, del fármaco y de otros factores como el método utilizado (Gobernado, 2001). En la Tabla 3 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
Norfloxacino	2,2-5,7
Ciprofloxacino	4-7
Levofloxacino	6,7-9,8

Tabla 3.- Penetración de diferentes quinolonas en polimorfonucleares, según el valor adquirido del cociente I/E.

2.5. MECANISMO DE ACCIÓN.

Este grupo de compuestos actúa sobre los microorganismos sensibles produciendo, esencialmente, un efecto bactericida a dos o cuatro veces la CMI (Gobernado y Santos, 2002).

Para encontrar su "diana", estos quimioterápicos tienen que penetrar en el interior de la célula bacteriana. En las bacterias gram negativas, las quinolonas penetran a través de los canales acuosos transmembrana de las porinas, y luego por difusión simple atraviesan el peptidoglicano y la membrana citoplasmática. La entrada se produce sin consumo de energía, y no es saturable, al ser un proceso pasivo. Es probable que además, las quinolonas hidrófobas puedan atravesar la membrana externa en función de su liposolubilidad. En las bacterias gram positivas el paso se realiza por difusión simple a través del peptidoglicano (Chapman y Georgopadakou, 1988; Gobernado y Santos, 2002; Nikaido y Thanassi, 1993; Ruiz, 2003).

Una vez en el interior de la bacteria se acumulan muy rápidamente (Piddock, 1994) salvo en la unión en la superficie, de cationes como el magnesio o el calcio, que antagonizan dicha acumulación mediante la formación de queloides de cationes divalentes.

Posteriormente, y una vez dentro de la bacteria, la principal diana es la inhibición de dos topoisomerasas la tipo II o girasa del ADN y la topoisomerasa IV, enzimas que forman parte del grupo de las topoisomerasas, fundamentales en los procesos de replicación, transcripción y reparación del ADN (Tálens-Visconti y cols., 2002). Sus funciones se detallan a continuación (Aktipis, 2000; Dougherty y cols., 2001; Schedletzky y cols., 1999):

-Estructuralmente la girasa del ADN contiene un complejo tetramérico A_2B_2 , con dos subunidades **A** y otras dos subunidades **B**. Las subunidades A son proteínas codificadas por el gen *gyrA*, mientras que las dos subunidades B, también de origen proteico, son codificadas por el gen *gyrB* (Dámaso, 1990; Hooper, 2001). Introduce superenrollamientos negativos en el ADN; relaja el ADN superenrollado positiva o negativamente. En concreto, **los monómeros A realizan cortes y uniones** en puntos determinados de la molécula de ADN (Taléns-Visconti y cols., 2002) y los monómeros B inducen superenrollamientos en torno al núcleo de RNA, se unen al ATP y participan en la transducción de la energía (Gellert y cols, 1976).

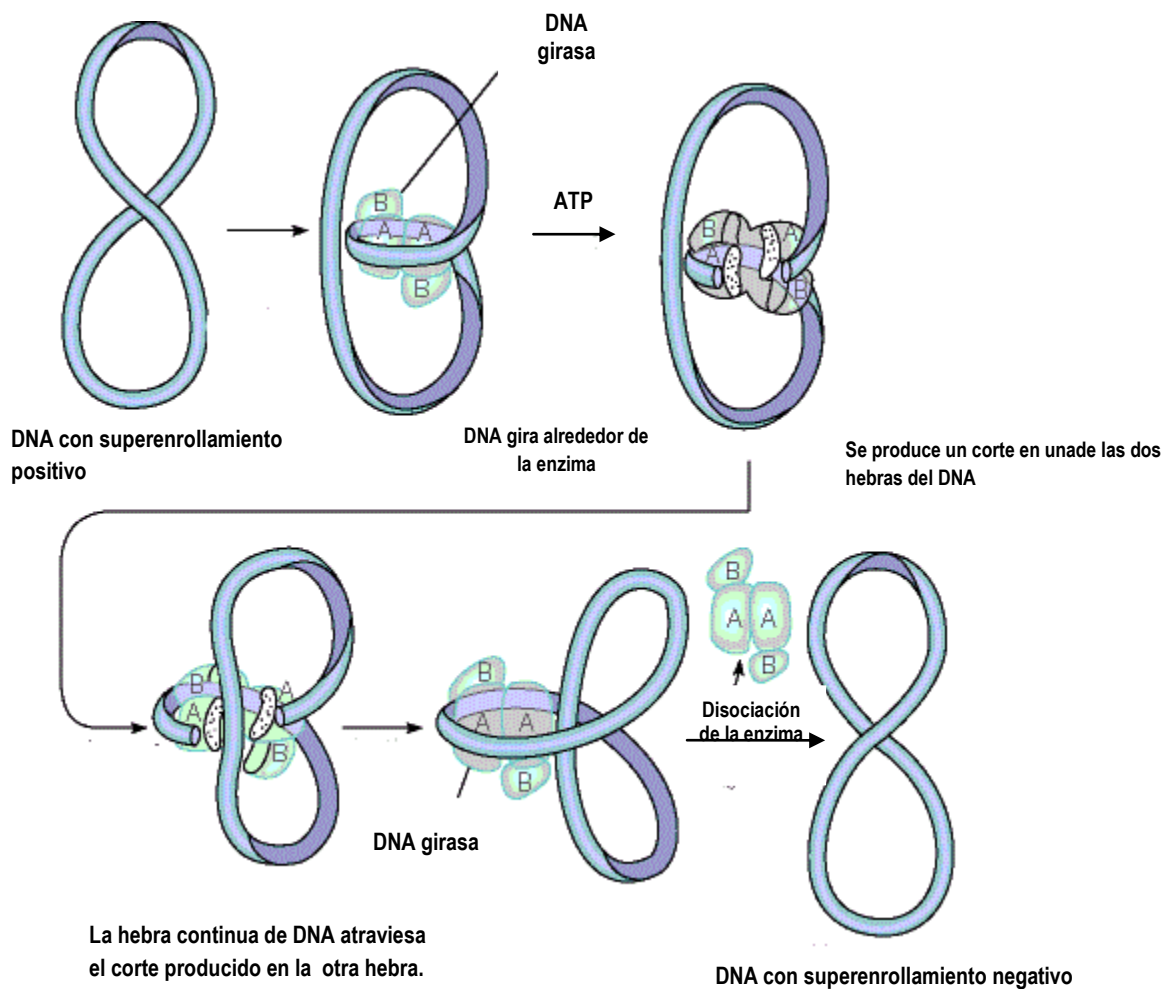


Figura 11.- Mecanismo de acción de la DNA girasa sobre el ADN.

- **Estructuralmente** la topoisomerasa IV es también un **tetrámero**, C_2E_2 , formado por dos subunidades C y dos E, codificadas por los genes *parC* y *parE*, respectivamente (Bearden y Danziger, 2001). Los aminoácidos codificados por los genes *parC* y *parE* son homólogos a los codificados por *gyrA* y *gyrB*. Esta similitud en la secuencia de aminoácidos entre la ADN girasa y la topoisomerasa IV (especialmente en las posiciones productoras de resistencia en la subunidad A de la girasa), implica que estos compuestos pueden inhibir la actividad de la topoisomerasa IV y la de la ADN girasa, aunque no con la misma intensidad (Azaña y cols., 2003; Schedletsky y cols., 1999; Taléns-Visconti y cols., 2002). Relaja el ADN; **separa** los dos cromosomas que permanecen encadenados **al final de la replicación**; pero no puede introducir superenrollamiento negativo.

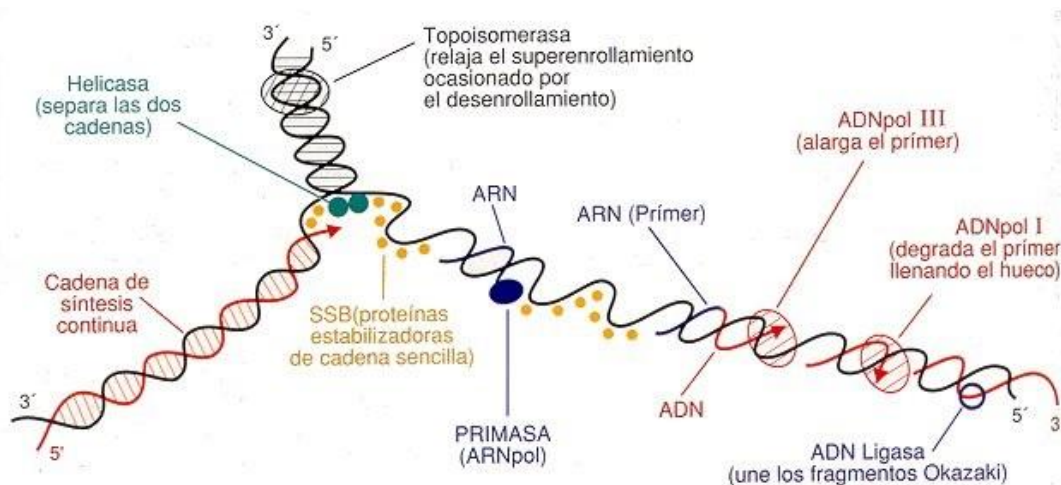


Figura 12.- Mecanismo de acción de la topoisomerasa IV sobre el ADN

La ADN girasa y la topoisomerasa IV actúan mediante la fijación a una molécula de ADN, y realizan sus funciones a expensas de ATP; es decir estas topoisomerasas son ATPasas (Aktipis, 2000). 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).

Las quinolonas, se unen a la subunidad A de la ADN girasa, a través de un residuo de tirosina, e impiden el cierre de los cortes producidos en el ADN. Los estudios sobre la cinética de unión de las fluoroquinolonas a la ADN girasa sugieren que cuatro moléculas se unen estereoquímicamente a la diana en una unión cooperativa (Lees, 2002b; Shen y cols., 1989b).

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 inhibición de estas enzimas se realiza a través de la formación de un complejo ternario entre quinolona, enzima y ADN, aunque también se puede formar primero un complejo no intercalante con ADN, al que posteriormente se unirá la enzima (Espada y Avendaño, 1993; Shen y cols., 1989a).

El proceso celular que actúa en el complejo ternario formado *in vivo* produce, un bloqueo del movimiento de la horquilla de replicación, una inhibición de la síntesis de ADN rápida y reversible con cese del crecimiento (acción bacteriostática) y una rotura irreparable de la doble hélice de ADN (Hiasa y cols., 1996; Hooper, 2000a). La molécula de ADN, demasiado extendida, no tiene espacio suficiente en el interior de la célula bacteriana (Dámaso, 1990). Posteriormente, la muerte de la bacteria (acción bactericida) tiene lugar, de forma rápida, por la síntesis de exonucleasas (Dámaso, 1990; Gobernado y Santos, 2002).

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 *S. 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 (Taléns-Visconti y cols., 2002).

- Otras consecuencias, demostradas con quinolonas son que:
 - 1.- Al actuar sobre las bacterias se liberan polisacáridos, probablemente por alteraciones en la formación del peptidoglucano en la pared celular, con aumento de la hidrofobicidad de la superficie celular, mayor permeabilidad para la entrada de los antibióticos betalactámicos, vulnerabilidad a otros fármacos, y mejor lisis de los detergentes; además los microorganismos se vuelven más sensibles a la acción del complemento sérico C₃, aumentando la capacidad fagocítica de los macrófagos alveolares y polimorfonucleares (Gobernado y Santos, 2002).
 - 2.- La bacteria responde a la inhibición de la ADN-girasa mediante mecanismos de autoprotección de la replicación del ADN que está siendo atacado, lo que se denomina respuesta SOS, pudiéndose medir por el aumento de la producción de β -galactosidasa, y que explica las formas filamentosas que adquieren las bacterias gram negativas después de haber estado en contacto con las quinolonas (Gobernado y Santos, 2002).
 - 3.- La acción bactericida se observa principalmente en el caso de las fluoroquinolonas, siendo además bifásica, es decir, para cada quinolona existe una concentración

bactericida máxima por encima de la cual la actividad disminuye, pero que vuelve a aumentar si se incrementa más la concentración. Esta característica parece que se explica por el hecho de que, con ciertas concentraciones, la acción bacteriostática impide la síntesis de proteínas que participan en la acción bactericida. Este hecho no es aplicable a moxifloxacino, el cual tiene un marcado efecto bactericida dependiente de la concentración, y que no es bifásico como el de otras fluoroquinolonas (Durham y cols., 2000).

Por lo anteriormente citado, no es recomendable la utilización conjunta de las quinolonas con sustancias que inhiban la síntesis proteica o el ARN bacteriano (rifampicina, cloranfenicol y tianfenicol), ya que puede reducirse de forma significativa la actividad bactericida. *In vitro* se han observado interacciones antagónicas entre ciprofloxacino y cloranfenicol, y en medicina humana entre ciprofloxacino y rifampicina (Walker, 2000). Ofloxacino y moxifloxacino no experimentan este antagonismo, lo que hace pensar que ambos poseen además del mecanismo común a las quinolonas otro mecanismo diferente (Boswell y cols., 1999; Dámaso, 1990).

En resumen, las quinolonas actúan en cuatro etapas: a) paso al interior celular, b) bloqueo de la diana (inhibición de la síntesis de ADN y proteica), c) inducción de la respuesta SOS y autolisinas (alteraciones de la pared celular) y d) muerte celular (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).

2.6. - EFECTO POSTANTIBIÓTICO DE LAS QUINOLONAS

El efecto postantibiótico (EPA), es el término utilizado clásicamente para describir la persistencia en la supresión del crecimiento bacteriano que se mantiene tras una corta exposición del microorganismo a los agentes antimicrobianos (Boswell y cols., 1999; Chan y cols., 2004; Gobernado y Santos, 2002; Pastor y Cantón, 1999). Bigger, en 1944, fue el primero en demostrar que las bacterias gram positivas (*Staphylococcus* y *Streptococcus*), tras ser expuestas a la acción de la penicilina G, no recobraban su crecimiento normal hasta transcurridas algunas horas después de haber sido eliminado por completo el antibiótico (Pastor y Cantón, 1999). 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, es a partir de los años 70, cuando éste fenómeno adquiere mayor importancia, al producirse en varios antimicrobianos nuevos así como en bacterias Gram negativas (Mc. Donald y cols., 1976; Wilson y Rounson, 1979). Así, se definió el término de “efecto postantibiótico” (EPA), cuya mayor aplicación clínica era la posibilidad de espaciar los regímenes de dosificación de los antibióticos sin perder eficacia, y se estandarizan las técnicas para su aplicación

El efecto postantibiótico 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 “ $unlog_{10}$ ”, 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).

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 los *S. aureus* durante la fase EPA (Pastor y Cantón, 1999). Durante el período postantibiótico se pueden observar los siguientes efectos:

- Cambios morfológicos: la observación de las bacterias por microscopía electrónica, muestra que las células están alteradas morfológicamente, adoptando formas globosas o filamentosas, después de la exposición al antimicrobiano.
- Mayor susceptibilidad a la acción de los leucocitos (postantibiotic leukocyte enhancement o PALE).

El efecto postantibiótico puede ser consecuencia de:

- La alteración de los factores de virulencia bacteriana, como la alteración de la actividad hemolítica observada sobre *E. coli* en presencia de quinolonas; la disminución de la síntesis de proteasas y exotoxina A de *P. 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, 2002b).
- La inhibición de la bomba de eflujo, que ha sido demostrada durante la fase de EPA (Lees, 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).
- Puede significar un período de resíntesis de proteínas necesarias para el metabolismo o el crecimiento bacteriano debido a la acción sobre el ADN (en las quinolonas) o sobre el ARN o ribosomas (en el caso de macrólidos y aminoglucósidos) inhibiendo la formación de

dichas proteínas. Si la unión es de tipo irreversible la actividad persiste a pesar de la retirada del antimicrobiano (Vogelman y Craig, 1985).

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 *S. aureus*, con la excepción de esparfloxacino 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).

Enrofloxacino 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).

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. Cada antimicrobiano 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).

La aplicación más importante del EPA está en los protocolos de dosificación de los antimicrobianos. Así, determinadas combinaciones de microorganismo-antimicrobiano 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).

2.7. INTEGRACIÓN FARMACOCINÉTICA – FARMACODINÁMICA.

La integración farmacocinética-farmacodinámica en antibacterianos es utilizada para predecir la aparición de mutantes resistentes y/o el éxito clínico en el tratamiento de una infección. Para ello utiliza un conjunto de ratios/relaciones entre parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos, cuyo valor puede ser usado para la determinación de la dosis necesaria para lograr el efecto clínico deseado.

En 1987, Blaser y cols., ya establecen la utilidad de éstos parámetros, concretamente la del ratio entre la concentración máxima y la concentración mínima inhibitoria (C_{\max}/CMI), como predictor de la aparición de resistencias en cepas de *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli* y *P. aeruginosa* frente a quinolonas (enoxacino), cuando este parámetro no alcanza valores iguales o superiores a 8. En 1996, Madaras-Kelly y cols., comparan en un modelo *in vitro* el comportamiento de ciprofloxacino y ofloxacino frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados del estudio señalaron que:

- a) El ofloxacino mostraba menor actividad que el ciprofloxacino frente a *P. aeruginosa* al presentar valores más altos de CMI a pesar de su mejor perfil farmacocinético (mayor semivida, $t_{1/2}$, mayor área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo, AUC, y C_{\max} alcanzada).
- b) La correlación entre el ratio AUC/MIC ($r = 0,80$) resultaba más idónea que la obtenida entre el área bajo la curva bactericida (eficacia antibacteriana) frente al área bajo la curva, AUC ($r = 0,04$) para preveer la eficacia de un determinado antibiótico.

A la vista de estos resultados, los autores del estudio concluyeron que para comparar la eficacia entre las distintas quinolonas, se necesitaban parámetros híbridos, como el ratio AUC/CMI, que incorpora características farmacocinéticas y características de sensibilidad bacteriana (farmacodinámicas).

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) debido a la mayor probabilidad de sufrir una mutación, que podría conducir a la creación de una población bacteriana menos susceptible.

-Las fluoroquinolonas con un ratio $C_{\max}/CMI_{90} > 3$ provocan una reducción en el recuento bacteriano de un 99%,

-Las fluoroquinolonas con un ratio $C_{\max}/CMI_{90} \geq 8$, previenen la aparición de microorganismos resistentes (Craig, 1998).

-Altas concentraciones de antibiótico, en relación a la CMIs 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 β -hemolíticos, por ello, el ratio C_{\max}/CMI_{90} será fundamental

para retrasar el recrecimiento de patógenos, por varias horas evitando la aparición de resistencias.

En ocasiones es más conveniente la utilización del ratio AUC/CMI:

-En el caso de *Bacillus anthracis*, como caso excepcional, 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).

-En ratios de $C_{max} / CMI_{90} < 8$, aumenta la importancia del tiempo de exposición al fármaco, y la eficacia dependerá de la ratio AUC/CMI (Owens y Ambrose, 2002).

-Sirve como índice PK/PD cuando la infección está provocada por bacterias de crecimiento lento, cuando existe poco o nulo EPA, o cuando las CMIs de los microorganismos son bajas.

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).

Por otro lado, la eficacia de un antibacteriano depende principalmente de tres factores (Quintiliani, 2004):

1. La capacidad del fármaco para unirse a su diana en la bacteria, evitando los posibles mecanismos de resistencia (bombas de eflujo, enzimas que destruyan al propio fármaco y/o dianas que modifiquen su configuración molecular).
2. La concentración del antibacteriano.
3. La persistencia en el lugar de acción, es decir, que el fármaco esté el periodo de tiempo suficiente para inhibir los procesos metabólicos de la bacteria.

Por tanto, para poder evaluar la eficacia de los antibacterianos, actualmente, se aceptan una serie de principios farmacocinéticos y farmacodinámicos que ayudan a predecir su potencia y el régimen de administración más adecuado y que tienen en consideración el factor concentración y el factor tiempo (Quintiliani, 2004). Así, los antibacterianos pueden dividirse principalmente en dos grupos, ya propuestos en 1976 por Shah y cols. (Craig, 1998; Andes y Craig, 2002a):

1. Aquellos que producen la muerte bacteriana de forma dependiente del tiempo de exposición.
2. Aquellos en los que la actividad es dependiente de la concentración alcanzada en el lugar de acción.

Si bien esta clasificación no es absoluta, de hecho, se ha descrito un tercer grupo con un patrón de actividad al que pertenecen antibacterianos con actividad tiempo dependiente pero con efectos persistentes, y que poseen la característica de que concentraciones altas de fármaco no aumentan la muerte bacteriana, pero si que provocan una supresión prolongada del crecimiento bacteriano (AliAbadi y Lees, 2000). Antibióticos pertenecientes a este tercer grupo serían azitromicina, clindamicina y las tetraciclinas (Andes y Craig, 2002) 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.

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). 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).

2.7.1.- ANTIBACTERIANOS TIEMPO DEPENDIENTE Y CONCENTRACIÓN DEPENDIENTE.

El grupo de antibacterianos tiempo dependiente, o antimicrobianos que producen la muerte bacteriana de forma dependiente del tiempo de exposición, y al que pertenecen β -lactámicos, linezolid, eritromicina y claritromicina, ha demostrado en modelos experimentales, que la mejor relación entre su actividad y la muerte bacteriana se consigue cuando se mantiene durante todo el intervalo posológico una concentración de antibiótico por encima de la CMI ($T > CMI$). Elevaciones de la concentración muy por encima de la CMI no se correlacionan con una mayor tasa de muerte bacteriana. La duración real en la que la concentración plasmática del fármaco debe estar por encima de la CMI no se conoce para todos los agentes antimicrobianos, para penicilinas, cefalosporinas y macrólidos este periodo de tiempo necesario para lograr la eficacia bacteriana es del 60%-70% del intervalo posológico (Craig, 2001; McKellar y cols., 2004).

Respecto a los antibacterianos con actividad concentración dependiente, o actividad dependiente de la concentración, como aminoglucósidos, quinolonas, ketólidos y metronidazol, se consigue una mayor tasa de muerte bacteriana cuanto mayor es su concentración en contacto con las bacterias. Los dos parámetros farmacocinético-farmacodinámicos (PK-PD), por tanto, que mejor se correlacionan con su eficacia son el ratio de concentración plasmática máxima $C_{m\acute{a}x}/CMI$ y el ratio área bajo la curva AUC/CMI . El mejor régimen de dosificación para estos fármacos será el que consiga mayores picos de concentración. Esto explicaría los buenos resultados obtenidos con los esquemas de dosificación de dosis única diaria para aminoglucósidos, así como los intervalos de dosificación de 12-24 horas para quinolonas (Drusano y cols., 1993). Además, otro aspecto que justifica la administración en intervalos prolongados de estos antimicrobianos, en nuestro caso las fluoroquinolonas, es que presentan un efecto postantibiótico prolongado frente a bacterias gram negativas y positivas, que permite inhibir el crecimiento bacteriano con concentraciones plasmáticas inferiores a la CMI. Los ratios establecidos como "óptimos" son unos valores de $AUC_{24}/MIC_{90} \geq 100-125$ h y $C_{m\acute{a}x}/MIC_{90} \geq 8-10$ (McKellar y cols., 2004).

2.7.2.-PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS-FARMACODINÁMICOS. EXTRAPOLACIÓN ENTRE ESPECIES ANIMALES

Experiencias realizadas en modelos animales, que emplean regímenes de dosis múltiples, han identificado al ratio AUC/CMI como el parámetro que mejor predice la eficacia, y al ratio $C_{m\acute{a}x}/CMI$ como un muy buen parámetro predictor de la prevención de aparición de resistencias (Andes y Craig, 2002b).

Los parámetros que mejor se correlacionan con el éxito del tratamiento para fluoroquinolonas han sido descritos en varios estudios, entre ellos destacar a Craig (1998), que describe, tras realizar experiencias en modelos con ratones, que el ratio AUC/CMI es el parámetro que mejor se correlaciona con la eficacia de las quinolonas, y que valores del mismo iguales o superiores a 35 son necesarios para producir un efecto bacteriostático; aunque un valor igual o superior a 100 se asocia a una mortalidad de aproximadamente cero. Forrest y cols. (1993), hallaron resultados similares con ciprofloxacino intravenoso en pacientes críticos que padecían neumonía nosocomial, señalando valores superiores a 125 como aceptables. Sin embargo, otros autores concluyen que el valor del parámetro AUC/CMI necesario para tratar las infecciones respiratorias de la comunidad es menor (Odenholt, 2002), como el valor de AUC/CMI igual a 35-63, descrito por Zhanel y cols. (2001) en un modelo *in vitro* con distintas fluoroquinolonas frente a *Streptococcus pneumoniae*.

Al utilizar las fluoroquinolonas se deben lograr $C_{m\acute{a}x}/CMI$ o bien AUC/CMI muy altas, y en general se recomienda el uso de dosis altas espaciadas. Forrest y cols. (1993), describen en pacientes críticos, que conforme aumenta el valor de AUC/CMI de ciprofloxacino, se obtiene una mayor rapidez en la consecución del éxito clínico (AUC/CMI = 125: curación en 32 días; AUC/CMI = 125-250: en 6,6 días; AUC/CMI > 250: en 1,9 días). Por tanto, dosis elevadas pueden reducir la duración del tratamiento con quimioterápicos. Así, dosis de 750 mg de levofloxacino administradas una vez al día, qd, durante 5 días muestran una eficacia y perfil de tolerancia similar a 500 mg qd del mismo fármaco administrado durante 10 días en el tratamiento de la neumonía adquirida en la comunidad (Dunbar y cols., 2003). Ahora bien, no hay evidencia de que una vez que se hayan alcanzado los valores de AUC/CMI, $C_{m\acute{a}x}/CMI$ y $T > CMI$ buscados, valores más elevados repercutan en una mayor rapidez en la acción bactericida o en una menor aparición de resistencias, mientras que si que se ha evidenciado la aparición de reacciones adversas con concentraciones en plasma excesivamente altas (Quintiliani, 2004).

Un aspecto interesante es que corrigiendo las diferencias existentes entre distintas especies animales, a partir de estudios realizados con modelos animales *in vivo* se puede extrapolar y determinar el valor del parámetro PK-PD ($T > CMI$ y ratios AUC/CMI , $C_{m\acute{a}x}/CMI$) necesario para obtener eficacia antimicrobiana y minimizar la aparición de resistencias (Andes y Craig, 2002a; Toutain y Lees, 2004). Estas extrapolaciones pueden realizarse siempre y cuando la potencia del fármaco no dependa de la especie y cuando se obtenga en dos o más especies el mismo efecto a partir de la misma exposición al fármaco, entendida como misma AUC (Toutain y Lees, 2004). Además, dichas extrapolaciones deben realizarse con precaución, ya que diversas experiencias publicadas, han utilizado ratones neutropénicos o pacientes comprometidos inmunológicamente, y por tanto, los ratios descritos son diferentes a los que se obtendrían en las mismas especies inmunológicamente competentes (Andes y Craig, 2002a).

2.7.3.- LIMITACIONES

En la integración PK-PD hay que tener en cuenta varias limitaciones (Andes y Craig, 2002):

1. Los parámetros farmacodinámicos (CMI) se obtienen *in vitro*. Por tanto, el pH, la presencia de oxígeno y el número de microorganismos no van a ser iguales en el medio de cultivo que en el ambiente donde crece el microorganismo *in vivo*: sangre, leche, líquido extracelular e intracelular, etc. Y que además se va a subestimar la duración del efecto postantibiótico, que suele ser superior *in vivo*.
2. Los parámetros farmacocinéticos (AUC, $C_{m\acute{a}x}$) se deben obtener de la concentración en la biofase, lo cual resulta complicado. Si no existen barreras que impidan la difusión del fármaco, la concentración del fármaco libre en plasma, se aproxima a la concentración del fármaco en el espacio extracelular. Por tanto, la concentración del antibacteriano no unido a proteínas plasmáticas es el mejor predictor del éxito clínico, incluso para las infecciones en tejidos. Sin embargo, cuando (McKellar y cols., 2004; Toutain y cols., 2002):
 - A). Existe una barrera que dificulte la difusión del antibacteriano (como ocurre con el sistema nervioso central, próstata, ojos)
 - B) En aquellos casos en los que exista menor riego sanguíneo (abscesos)

C) Cuando se necesite alcanzar una concentración intracelular elevada, porque la infección esté causada por patógenos intracelulares (micoplasmas, clamidias...) la concentración plasmática puede no resultar tan útil para predecir las concentraciones en el lugar de infección o biofase, y es cuando no se va a obtener una buena correlación entre los parámetros farmacocinéticos y la respuesta farmacológica, si no se obtienen las concentraciones en dicha biofase.

La fracción libre del antibacteriano debe ser similar en plasma y en el líquido extracelular. En el caso de que el antibacteriano se una a proteínas plasmáticas de forma importante (fracción libre menor del 20%), se debe de aplicar un factor de corrección para poder realizar los cálculos farmacocinéticos-farmacodinámicos (Toutain y cols., 2002).

2.7.4.- VENTANA DE SELECCIÓN DE MUTACIONES Y CONCENTRACIÓN PREVENTIVA DE MUTANTES

Recientemente, se han incorporado nuevos conceptos en este campo. Como la ventana de selección de mutaciones (VSM) o intervalo comprendido entre la concentración mínima inhibitoria (límite inferior) y la concentración preventiva de mutantes (CPM, límite superior) para un microorganismo determinado (Mouton y cols., 2005; Croisier y cols., 2004). La concentración preventiva de mutantes (CPM) es la concentración que previene el crecimiento de microorganismos, en determinaciones en las que se utilizan inóculos con elevadas cantidades de bacterias ($\geq 10^9$), empleando el método de dilución en agar (Mouton y cols., 2005). La concentración preventiva de mutantes hace referencia a la concentración que previene el crecimiento de mutantes resistentes de primer escalón, o concentración de antibacteriano que únicamente permite el crecimiento de microorganismos que poseen dos mutaciones simultáneamente (Blondeau y cols., 2004).

Estos parámetros se utilizan como predictores de la aparición de mutantes resistentes, en función de la exposición que pueda sufrir una población determinada de microorganismos a concentraciones de antibacteriano pertenecientes a la ventana de selección de mutantes (Croisier y cols., 2004).

En el caso de enrofloxacin, se conoce que las resistencias adquiridas en diferentes especies: *Escherichia coli* (Abd El Kader A., 1995), *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* (Aarestrup y cols., 1997; Jacobs-Reitsma y cols., 1994).

La concentración mínima inhibitoria (CMI), o concentración más baja de un antimicrobiano necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano *in vitro* cuando se ensayan de 10^4 a 10^5 células bacterianas, no siempre permite conocer la existencia de pequeñas cantidades de mutantes resistentes en la población bacteriana, teniendo en cuenta que en ocasiones se encuentran de 10^9 a 10^{10} células bacterianas, en el lugar de la infección (Epstein y cols., 2004).

Además, se ha observado que el periodo de tiempo en el que las concentraciones plasmáticas son elevadas, resulta un factor importante en la aparición de mutantes resistentes, y por tanto, no se considera suficiente el conocimiento del ratio $C_{m\acute{a}x}/CMI$ (Blondeau y cols., 2001).

Conociendo la cinética de un antimicrobiano y el parámetro CPM frente a un patógeno dado, se conoce durante cuánto tiempo las concentraciones plasmáticas experimentales se encuentran por encima de la CPM y se puede determinar el protocolo de dosificación que minimiza la aparición de mutantes resistentes (Blondeau y cols., 2001).

En función del valor de la concentración preventiva de mutantes, CPM, los antimicrobianos se clasifican en dos categorías:

-A la primera categoría pertenecen los antimicrobianos que administrados en monoterapia a dosis estándar, alcanzan concentraciones superiores a la CPM.

-A la segunda pertenecen aquellos quimioterápicos, cuyas concentraciones plasmáticas no alcanzan la CPM, por lo que deben administrarse concomitantemente con otros antibacterianos.

Ejemplos del primer grupo serían algunas fluoroquinolonas frente a un elevado porcentaje de gram negativos y gram positivos. Al segundo grupo, pertenecerían agentes como los tuberculostáticos (Epstein y cols., 2004).

2.8. ESPECTRO ANTIBACTERIANO.

Las quinolonas actúan específicamente sobre el ADN por lo que son rápidamente bactericidas y muestran efecto post antibiótico (Vancutsem y cols., 1990; Mckellar, 1996). Además, actúan como antibióticos concentración dependientes frente a bacterias Gram negativas y como tiempo dependiente o una combinación de ambos efectos frente a Gram positivas (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 fluoroquinolonas incluso a concentraciones por debajo de la CMI (Wetzstein y De Jong, 1996):

1. Inhiben la división celular.
2. Reducen la tasa de crecimiento bacteriano.
3. Inducen cambios en la ultraestructura de la superficie bacteriana que previene la colonización de tejidos específicos.
4. Interfieren en la expresión de factores de virulencia.
5. 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 a pH ligeramente ácido (tejidos inflamados, abscesos o fagocitos) se reduce la tasa de muerte de algunas bacterias en presencia de enrofloxacin. En contraste, a pH 8 la actividad bactericida del enrofloxacin no varía (Wetzstein y De Jong, 1996).

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

1. Rápida actividad bactericida a concentraciones relativamente bajas.
2. Estrecha relación entre la CMI y la concentración bactericida mínima con menor efecto de inóculo para la mayoría de los organismos.
3. Prolongado efecto post antibiótico sobre estafilococos, enterobacterias y pseudomonas.
4. No seleccionan mutantes resistentes mediados por plásmidos.
5. Frecuencia de resistencia mutacional baja ($<10^{-9}$).

6. No alteran la flora de estreptococos y anaerobios intestinales.

7. Inhiben a las bacterias resistentes a los aminoglucósidos y betalactámicos.

En general, las fluoroquinolonas de amplio espectro cubren una amplia variedad de patógenos, incluyendo microorganismos gram positivos, gram negativos, micoplasmas y pseudomonas. En la tabla 4 se observan de forma simplificada, las características comparativas de siete quinolonas, como ejemplo.

Numerosos estudios determinan la CMI de las fluoroquinolonas frente a diferentes tipos bacterianos. McKellar y cols. (2004), determinaron los valores de CMI₉₀ para enrofloxacin, orbifloxacin, marbofloxacin y difloxacin frente a *S. aureus*, *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Estos autores exponen que la ratio C_{max}/CMI es particularmente útil en la determinación de su actividad óptima. El impacto de la CMI sobre los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos se demuestra claramente en el caso del orbifloxacin. Además, las fluoroquinolonas mantienen su actividad frente a bacterias gram positivas con valores más bajos de AUC₀₋₂₄/CMI que en bacterias gram negativas, lo que resulta paradójico ya que sus valores de CMI suelen ser más bajos en bacterias gram negativas.

Grobbel y cols. (2007) determinaron los valores de CMI₅₀ para enrofloxacin, ciprofloxacin, danofloxacin, difloxacin, norfloxacin y marbofloxacin frente a *M. haemolytica*, *P. multocida*, *E. coli*, *S. aureus*, *Staphylococci coagulasa negativos*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *A. pleuropneumoniae*, *B. bronchiseptica* y *S. suis*, aisladas de bovino y porcino. Los datos muestran una alta actividad *in vitro* para enrofloxacin y ciprofloxacin contra todos los patógenos bovinos y porcinos testados. Marbofloxacin fue significativamente más activo que enrofloxacin frente a *M. haemolytica*, *E. coli* y *B. bronchiseptica*, pero menos activo frente a *P. multocida*, *S. aureus*, estafilococos coagulasa negativos, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *A. pleuropneumoniae* y *A. suis*.

Marín y cols. (2010b) determinaron las CMI₅₀ y CMI₉₀ para marbofloxacin, orbifloxacin y danofloxacin en cepas de *S. aureus* aisladas de cabras afectadas por mastitis. De los tres antibacterianos testados, danofloxacin presentó menores valores de CMI, mientras que marbofloxacin presentó valores intermedios y orbifloxacin valores superiores.

Enrofloxacin presenta 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 oxacilina, 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 el 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).

	NAL	PIP	NOR	CIP	LEV	MOX
Generación	1 ^a	1 ^a	2 ^a	3 ^a	3 ^a	4 ^a
Acción sobre gram positivos	-	-	+	++	+++	+++

Acción sobre gram negativos	++	++	+++	+++	++	++
Acción sobre gérmenes intracelulares	-	-	+	+	+++	+++
Acción sobre anaerobios	-	-	-	-	-	++

NAL: ácido nalidíxico; PIP: ácido pipemídico; CIP: ciprofloxacino; NOR: norfloxacino; LVF: levofloxacino; MOX: moxifloxacino; GAT: gatifloxacino

Tabla 4.-Características comparativas de siete quinolonas (Gobernado y Santos, 2002).

En la siguiente tabla, se exponen los valores de CMI₅₀, CMI₉₀ obtenidas con enrofloxacino frente diferentes cepas bacterianas:

Cepas	Especie	CMI ₅₀	CMI ₉₀	RANGO	Referencia
E. coli	Vaca	0,0625	0,0625	0,0625-64	(J.A Orden, 2001)
	Cabra	0,0625	0,0625	0,0625-0,25	(J.A Orden, 2001)
	Oveja	0,0625	0,0625	0,0625-0,5	(J.A.Orden, 2001)
S. aureus	Vaca	0,06	0,25	0,03-0,5	(L.Oliveira., 2012)
	Pollos	0,12	1	-	(P. Lees,2002)
	Oveja	-	0,5	-	(Haritova, 2003)
	Cabra	0,25	0,5	0,12-1	(Titos, 2010)
	Ternero	0,016	0,125	-	(J.M.Blondeau, 2012)
	Conejo	16	16	1-16	(P.Marin,E.Alamo, 2012))

<i>M. Haemolytica</i>	Ternero	0,016	0,125	-	(Jm.Blondeau y cols., 2012)
<i>Pasteurella multocida</i>	Cerdo	0,007	0,015	-	(Can J. Vet Res, 1990)
<i>P. Haemolytica</i>	Ternero	0,03	0,03	-	(Can J. Vet Res, 1990)
<i>Actinobacillus suis</i>	Ternero	0,007	0,015	-	(Can J. Vet Res, 1990)
<i>Streptococcus spp</i>	Caballo	1	1	-	(Can J. Vet Res, 1990)
	Cerdo	0,5	1	-	(Can J. Vet Res, 1990)
<i>Haemophilus spp.</i>	Ternero	0,015	0,015	-	(Can J. Vet Res, 1990)
	Cerdo	<0,01	<0,01	-	(Can J. Vet Res, 1990)
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Cerdo	0,015	0,015	-	(Can J. Vet Res, 1990)
<i>Actinomices piogenes</i>	Cerdo	1	1	-	(Can J. Vet Res, 1990)
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	Oveja	0,125	0,125	-	(Can J. Vet Res, 1990)
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Cerdo	0,06	0,06	-	(Can J. Vet Res, 1990)
<i>Rhodococcus equi</i>	Caballo	0,5	1	-	(Can J. Vet Res, 1990)



Tabla 5.-Valores de CMI₅₀, CMI₉₀ y rango de concentraciones (µg/ml) obtenidas con enrofloxacino.

2.9. RESISTENCIAS BACTERIANAS

Para ejercer su efecto citotóxico, las quinolonas deben penetrar en el interior de la bacteria, alcanzar su diana celular, las topoisomerasas II y IV, y posteriormente inducir la muerte de la célula. La resistencia a las quinolonas incluye aquellos mecanismos que impiden a estos quimioterápicos alcanzar su diana y/o interaccionar con la misma (Hooper, 2002).

El amplio espectro antimicrobiano, y la farmacocinética de las nuevas fluorquinolonas, han aumentado su uso en 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 humana, y hay evidencias que indican la aparición 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).

La inactivación de las fluorquinolonas ha sido descrita con enrofloxacino frente a los hongos *Phanerochaete chrysosporium* y *Gloeophyllum striatum* (Wetzstein y cols., 1997) y, recientemente, ha sido puesto de manifiesto la N-acetilación del anillo piperazínico de las quinolonas, por parte de una acetiltransferasa que también modifica los aminoglucósidos y que está codificada por una variante del gen *aac(6')/Ib*. Esta resistencia se ha considerado transferible y de bajo nivel (Robicsek y cols., 2006).

Además de la inactivación de las quinolonas, anteriormente descrita, los mecanismos que utilizan los microorganismos para eludir la acción bactericida de las quinolonas se basan en las alteraciones que afectan a la diana de las mismas y las modificaciones que disminuyen la concentración de la quinolona en el interior de la bacteria.

Diversos estudios 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).

En algunas especies de Gram negativos como Enterobacterias, como es el caso de *Escherichia coli* y *Klebsiella* y *Enterobacter spp.* (Appelbaum y Hunter, 2000) se han dado resistencias al ciprofloxacino.

Se han detectado resistencias bacterianas a enrofloxacinó 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.
- 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).

2.9.1. ALTERACIONES QUE AFECTAN A LA DIANA DE LAS FLUOROQUINOLONAS.

Mediante mutaciones en los genes que codifican la ADN girasa (*gyrA,gyrB*) y la topoisomerasa IV (*parC,parE*). Estas alteraciones se consideran el mecanismo principal de resistencia a fluoroquinolonas. Las mutaciones en *gyrA*, el gen que codifica la subunidad A de la ADN girasa, constituyen el mecanismo más común de resistencia a quinolonas en las bacterias gram negativas, mientras que las mutaciones en *parC* (gen que codifica la subunidad C de la

topoisomerasa IV) lo son para las gram positivas (Gobernado, 2001). Estas mutaciones involucran áreas similares en el gen, denominadas QRDR (*quinolone resistance-determining regions*), que en el caso de *gyrA* en *E.coli* se localiza entre el aminoácido 67 y el 106. También se han observado mutaciones que afectan a la subunidad B de la ADN girasa (*gyrB*) y a la subunidad E de la topoisomerasa IV (*parE*), sin embargo, estas mutaciones son menos frecuentes y de menor relevancia clínica (Sanders, 2001). La presencia de una única mutación (mutantes de primer escalón) en la región QRDR de *gyrA*, suele dar lugar a altos niveles de resistencia para el ácido nalidíxico, mientras que son necesarias mutaciones adicionales en *gyrA* y/o en *parC* para obtener estos niveles de resistencia en fluoroquinolonas (Hooper, 2000b; Ruiz, 2003).

Estudios en los genes de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* (en los que la topoisomerasa IV es la “diana”) muestran una disminución de la afinidad de la quinolona por el complejo enzima-DNA tras las mutaciones 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 estudios en *Streptococcus pneumoniae* 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:

-1º: 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.

-2º: 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.

-3º: 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).

2.9.2.-MODIFICACIONES QUE DISMINUYEN LA CONCENTRACIÓN DE LA QUINOLONA EN EL INTERIOR DE LA BACTERIA

Se han observado: resistencias por alteración de la membrana externa en bacterias gram negativas y resistencias a causa de la sobreexpresión de bombas de eflujo en bacterias gram positivas y gram negativas. Las resistencias producidas por una disminución de la permeabilidad o alteración de las bombas de eflujo, son menos específicas que las mutaciones, generando múltiples resistencias cruzadas a otros antibióticos no relacionados estructuralmente, como cefemas, penemas y tetraciclinas (Poole, 2000).

2.9.2.1.- Resistencias por alteración de la membrana externa en bacterias gram negativas

Estas modificaciones se originan por alteraciones de los genes que codifican los canales de las porinas, que ejercen un papel fundamental en la difusión de la quinolona a través de la membrana externa. Cohen y cols. (1989), observaron que varios mutantes, que mostraban resistencia a las quinolonas hidrofílicas, tenían en común la reducción del número de OmpF, la principal y mayor proteína de las porinas de la membrana externa de *E. coli*. Se ha observado que fármacos como cloranfenicol, tetraciclinas y salicilatos pueden inducir la expresión de *MarA* (gen regulador cuyo efecto neto es la disminución de la expresión de OmpF) (Ruiz, 2003). Estas resistencias suelen ser de bajo nivel, necesitándose que el microorganismo disponga además de algún otro mecanismo de resistencia para hacer inviable la acción de la fluoroquinolona (Sanders, 2001).

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).

El estado energético de las membranas también podría estar interviniendo en el transporte de moléculas de quinolonas afectando por tanto 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).

2.9.2.2.-Resistencia a causa de la sobreexpresión de bombas de eflujo en bacterias gram positivas y gram negativas

Estas bombas expulsan la quinolona desde el medio intracelular al extracelular por acción de transportadores activos endógenos, impidiendo su acumulación (Li y Nikaido, 2004). Este tipo de sistemas se caracterizan por su inespecificidad (actúan sobre diverso antibióticos no relacionados estructuralmente, biocidas, antisépticos, compuestos aromáticos y detergentes) y por su ubicuidad, encontrándose descrita en todas las especies bacterianas analizadas así como en células eucariotas. La mayor expresión, sobreexpresión, de una bomba de eflujo u otra va a depender del microorganismo y de la quinolona a la que se ve expuesta (Join-Lambert y cols., 2001). Así se encuentra que:

- Durante los días de tratamiento frente a *Pseudomonas aeruginosa*, ciprofloxacino desarrolla preferentemente, en ratas, la sobreexpresión de MexEF-OprN, mientras que trovafloxacino desarrolla MexCD-OprJ (Join-Lambert y cols., 2001).
- Los sistemas/bombas de eflujo son diferentes para gram positivos y gram negativos, en estos últimos los sistemas de eflujo son multicomponentes. La tabla 6 recoge, para importantes patógenos en clínica, las bombas de eflujo causantes de resistencia a fluoroquinolonas. Nótese como para una misma bomba en muchos casos el espectro incluye varios quimioterápicos, por lo que, en el caso de que un patógeno sobreexpresa alguno de estos sistemas, se pueden establecer resistencias cruzadas entre antibacterianos (Li y Nikaido, 2004; Aeschlimann, 2003; Join-Lambert y cols., 2001; Poole, 2000).
- La expresión de los transportadores de expulsión puede determinar el grado de sensibilidad antimicrobiana, y está reconocida como causa de resistencia de bajo grado a quinolonas (Hooper, 2002; Taléns-Visconti y cols., 2002).

Como ya se ha mencionado anteriormente, las quinolonas son antibacterianos sintéticos (moléculas sin contacto previo con microorganismos) y que además, actúan sobre enzimas con funciones esenciales para la bacteria, estas razones provocan que el desarrollo de mutantes resistentes no sea rápido. Ante la exposición a la fluoroquinolona, la supervivencia de las bacterias se ve comprometida y se desarrollan mecanismos de resistencia que disminuyen la concentración del fármaco en el interior celular, como la sobreexpresión de bombas de eflujo,

aunque este hecho suponga un coste extra para la bacteria. Estas ventajas *a priori* de las quinolonas, tienen la contrapartida de seleccionar la sobreexpresión de estos sistemas, que en muchas ocasiones confieren a los microorganismos resistencias multifármaco (Poole, 2000; Li y Nikaido, 2004), si bien, ya se conocen y se realizan estudios con inhibidores de estas bombas, como reserpina y otras moléculas más potentes como 5'-metoxihidnocarpina, fenilalanilarginil- β -naftilamida o la M-clorofenil-hidrazona (Pidcock y Jin, 1999; Schmitz y cols., 2000; Li y Nikaido, 2004). A este respecto, Beyer y cols. (2000), estudian la emergencia de resistentes utilizando reserpina, como inhibidor de los sistemas de eflujo de fluoroquinolonas en *S. aureus* y *S.pneumoniae*.

Los mecanismos de resistencia pueden manifestarse solos o en combinación. La resistencia se manifiesta por un aumento de la CMI de las quinolonas para bacterias determinadas, y generalmente, ocurre en distintos escalones. Las cepas mutantes de primer escalón aparecen por mutación de una de las dos topoisomerasas, dando como resultado un grado moderado de resistencia. Una nueva mutación da lugar a los mutantes de segundo escalón, que conlleva a una resistencia más elevada con CMI's aún superiores (Sanders, 2001).

Microorganismo		Componentes de la bomba de eflujo			Sustratos del sistema de eflujo
GRAM NEGATIVOS	<i>Acinetobacter baumannii</i>	AdeA	AdeB	AdeC	Fluoroquinolonas, Aminoglucósidos, Cloramfenicol, Novobiocina, Tetraciclinas, Trimetoprim
	<i>Campylobacter jejuni</i>	CmeA	CmeB	CmeC	Fluoroquinolonas, Acido Nalidíxico, Ampicilina, Cefotaxima, Eritromicina, Cloramfenicol
	<i>Escherichia coli</i>	AcrA	AcrB	TolC	Fluoroquinolonas, Betalactámicos, Cloramfenicol, Macrólidos, Novobiocina, Rifampicina,
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MexA	MexB	OprM	Fluoroquinolonas, Aminoglucósidos, Betalactámicos, Cloramfenicol, Macrólidos, Novobiocina, Sulfonamidas, Tetraciclinas, Trimetoprim
		MexC	MexD	OprJ	Fluoroquinolonas, Cloramfenicol, Cefalosporinas, Tetraciclinas

		MexE	MexF	OprN	Fluoroquinolonas, Cloramfenicol
		MexX	MexY	OprM	Fluoroquinolonas, Aminoglucósidos, Cefalosporinas, Eritromicina, Tetraciclinas
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	SmeA	SmeB	SmeC	Fluoroquinolonas, Aminoglucósidos, Betalactámicos
		SmeD	SmeE	SmeF	Fluoroquinolonas, Tetraciclinas, Eritromicina
	<i>Salmonella typhimurium</i>	AcrA	AcrB	TolC	Fluoroquinolonas, Betalactámicos
GRAM POSITIVOS	<i>Bacillus subtilis</i>	Blt			Fluoroquinolonas
		Bmr			Fluoroquinolonas
	<i>Enterococcus faecalis</i>	EmeA			Fluoroquinolonas, Clindamicina, Eritromicina, Novobiocina
	<i>Staphylococcus aureus</i>	NorA			Fluoroquinolonas (quinolonas fundamentalmente hidrófilas como enoxacino y norfloxacino)
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	PmrA			Fluoroquinolonas

Tabla 6- Componentes y sustratos de las bombas de eflujo en bacterias gram (+) y gram (-).

2.9.2.3.- Mecanismos de resistencia mediada por plásmidos.

Se ha descrito únicamente en bacterias Gram negativas tales como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Este mecanismo está mediado por un el gen llamado *qnr* presente en un plásmido conjugativo de tipo integrón (Rodríguez-Martínez y cols., 2003; Tran y Jacoby, 2002; Wang y cols., 2003). Aumenta la resistencia de las cepas de 4 a 8 veces y complementa a otros mecanismos de resistencia, tales como mutaciones o sistemas de eflujo. 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 enzima 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).

Las resistencias a quinolonas son de tipo cromosómico generalmente, aunque se han registrado casos de resistencia mediada por plásmidos. Concreta y cronológicamente:

1. En *Escherichia coli* se ha observado una sobreexpresión de los genes *acrAB* en los mutantes Mar, aumentando la expresión de la bomba AcrABy provocando 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).
2. *In vitro*, se ha observado la capacidad de *S. pneumoniae* y de estreptococos del grupo viridans de incorporar vía transformación, fragmentos de *gyrA* y *parC*, que incluyen las regiones QRDR. Estos estudios, además, muestran que la resistencia podría ser transferida del ADN de *S. pneumoniae* a estreptococos del grupo viridans y a la inversa (Ferrándiz y cols., 2000).
3. Tran y Jacoby (2002), demuestran la existencia del gen *qnr* en plásmidos, y que la proteína que codifica protege a la ADN girasa de la inhibición causada por las quinolonas, si bien, Jacoby y cols. (2003), describen la baja prevalencia de este gen, ya que sólo lo encontraron en seis cepas (cinco de *K. pneumoniae* y una de *E. coli*) de entre un elevado número de series procedentes de 19 países.
4. En la Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy en San Francisco 2006, se recogen distintos trabajos en los que se comunica la resistencia a fluoroquinolonas mediada por los genes transmitidos por plásmidos de la familia *qnr*. Se describen los genes *qnrA* (con las variantes del A1 al A7), los genes *qnrB* (con las variantes del B1 al B6) y los genes *qnrS1* y *qnrS2*, cada uno de ellos con distinta prevalencia según las diferentes regiones geográficas. Estos genes:
 - a) Confieren resistencia frente al ácido nalidíxico, frente a las fluoroquinolonas la confieren de bajo nivel, pero facilitan la aparición de un mayor nivel de resistencia debida a mutaciones adicionales en los genes cromosómicos.

- b) Están presentes en una gran variedad de especies de enterobacterias (*Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii* y *Enterobacter spp.*) tanto de adquisición comunitaria como nosocomial.
 - c) Se asocian en general con betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y con alguna mutación además en *gyrA* o *parC*.
5. Además, se ha descrito una nueva bomba de eflujo plasmídica denominada Qep, causante de resistencia transmisible a fluoroquinolonas, en un aislado de *Escherichia coli* procedente de Japón (Resumen científico ICAAC, 2006).
 6. 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).

El continuo incremento en la prevalencia de aislados resistentes a quinolonas, se puede atribuir a su uso extensivo y abusivo, tanto en medicina humana como en veterinaria (Ruiz, 2003). En 1997, Blanco y cols., publican el porcentaje de resistencias a quinolonas que registraron en 301 aislados clínicos de *E. coli* pertenecientes a pollos infectados y 167 aislados controles de *E. coli* obtenidos en Orense. En el estudio se pone de manifiesto una resistencia de nivel medio-alto (36-46%) para el ácido pipemídico y nalidíxico y una resistencia moderada (13-24%) para norfloxacino, ofloxacino, ciprofloxacino, flumequina y pefloxacino. A raíz de los resultados y a consecuencia del riesgo de resistencia cruzada con patógenos entéricos humanos (concretamente, *Salmonella spp* y *Campylobacter spp*), los autores recomiendan un uso prudente de fluoroquinolonas en aves de corral.

En medicina humana, la prevalencia de la resistencia de *Streptococcus pneumoniae* a fluoroquinolonas en España es baja, aunque varía con el tiempo, la región geográfica, la edad y el origen de las cepas (De la Campa y cols., 2004). La incidencia total de *Streptococcus pneumoniae* resistente a ciprofloxacino registrada en los últimos años oscila entre 2,6 y 7%

(Pérez-Trallero et al., 2001; De la Campa y cols., 2004). Por otro lado, se ha observado que las fluoroquinolonas más modernas se ven menos afectadas por las resistencias y seleccionan menos mutantes resistentes, este hecho, podría deberse a su gran afinidad por las topoisomerasas, y por tanto, a su gran poder letal, por ello se ha recomendado restringir el uso de las quinolonas más antiguas (Beyer y cols., 2000; Pestova y cols., 2000; Sanders, 2001; Li y Nikaido, 2004). Así, mientras que una cepa de *S. pneumoniae* mutante de primer escalón es resistente a ofloxacino, puede seguir siendo sensible a moxifloxacino, aunque la sensibilidad para éste último disminuye (Gobernado, 2001).

El problema aparece cuando la resistencia tiene impacto en la clínica, es decir, cuando los tratamientos empíricos dejan de ser eficaces. Los fracasos del tratamiento además de repercutir en el paciente, también impactan en el Sistema de Salud en conjunto, prolongando la enfermedad y llevando a incrementos en los costos de la salud (Talan, 2001).

2.9.3. SENSIBILIDAD A ENROFLOXACINO. PUNTOS DE CORTE.

La concentración mínima inhibitoria es la concentración más pequeña que inhibe el crecimiento del microorganismo y se considerará aquella en la que no hay crecimiento observable. La determinación de la CMI se realizó usando el método de microdilución recomendado por CLSI (2009). Se fijaron como puntos de corte los siguientes valores (CLSI 2007):

		CMI estándar (µg/mL)		
		Resistente	Sensibilidad intermedia	Sensible
Microorganismo	<i>Staphylococcus spp.</i>	≥4	2	≤ 1

Tabla 7.- Puntos de corte establecidos para enrofloxacino

Según la sensibilidad del antibiótico a cada cepa bacteriana se considerará el antibiótico como:

-Sensible: implica que las cepas aisladas son inhibidas totalmente por el antibiótico. Generalmente al utilizar la dosis recomendada se alcanzan concentraciones del antimicrobiano adecuadas en el lugar de acción.

-Intermedio: se alcanzan concentraciones adecuadas en sangre y en tejido pero la respuesta es inferior frente a la infección que en el caso anterior.

-Resistente: frente a una determinada especie bacteriana. Se da cuando el antibiótico no es capaz de hacer frente a la infección, debido a que no alcanza una concentración adecuada en el lugar de acción o debido a la aparición de especies mutantes que inhiben la acción del antibiótico.

2.10.- PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS

Las variables farmacocinéticas describen los procesos que se producen en el animal tras la administración del fármaco y engloban los procesos de absorción, distribución y eliminación.

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. Animales con alteraciones en la función renal o hepática que disminuyen el aclaramiento y consecuentemente incrementan la concentración sistémica del fármaco, afectando a su seguridad.
2. La infección se localice en una zona de difícil acceso o bien se vea afectada la unión a proteínas plasmáticas y la difusión del fármaco al lugar de acción.

3. La susceptibilidad del patógeno sea desconocida o intermedia por los criterios del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).
4. Las condiciones de administración de 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. El uso concomitante de otro fármaco, ya que puede dar lugar a interacciones.
6. La virulencia de la cepa bacteriana o la inmunodepresión del animal.
7. Si pretendemos limitar la probabilidad de aparición de resistencias.

2.10.1.-ABSORCIÓN Y BIODISPONIBILIDAD

Aunque hay importantes variaciones individuales entre quinolonas en las diferentes especies de animales, en general, 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 ibafloxacin junto con alimentos, se produce un incremento del AUC y C_{max} en gatos (Coulet y cols., 2005). La lipofilia promueve la absorción por difusión pasiva.

Otros procesos como el mediado por transportadores a través de la membrana apical, ha sido demostrado con esparfloxacin, levofloxacin, ciprofloxacino y norfloxacino (Griffiths y cols., 1994; Rabbaa y cols., 1997). En estos casos la disolución del fármaco es imprescindible para su completa absorción intestinal. Si no ocurre así, la biodisponibilidad oral será menor y se alcanzarán 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). 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).

Especie	Vía	t_{max} (h)	F (%)	Referencia
Caballo	IG	4	78,29	Haines,2001
	IM	2,67	100,0	Kaartineen,1997
Vacas	SC	2,4		Rantala, 2002
Cabras	SC	1,09	90	Elmas, 2001
ovejas	IM	0,83	75,35	Haritova,2003
Conejos	IM	0,41	90,0	Elmas, 2007
Pavos	VO	6,33	69,20	Dimitrova,2007
Pollos	VO	1,5	89,2	Knoll, 1999
gatos	VO	0,6		Richez y cols, 1997
cerdos	IM	2,25	95,6	Richez y cols, 1997

Tabla 8.-Valores de t_{max} y biodisponibilidad de enrofloxacino en distintas especies.

Vancutsem y cols., informaron de los tiempos de aparición del pico de concentración plasmática (T_{máx}) de enrofloxacino 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 enrofloxacino 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 enrofloxacino 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 enrofloxacino 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 enrofloxacino 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 (Kaarinen 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 enrofloxacino 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 (Mengozi 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 subcutánea y 61 % para la absorción gastrointestinal (Broome y cols., 1991).

2.10.2.- DISTRIBUCIÓN TISULAR Y CONJUGACIÓN PROTEICA

La actividad *in vivo* de un agente antimicrobiano, debido a la capacidad del fármaco para pasar de la sangre a los tejidos, depende de la fracción libre de dicho fármaco. Por ello, es más interesante conocer la fracción libre de fármaco que la concentración total de éste (Bergogne-Berezin, 2002; Drusano, 2002) a la hora de evaluar la dosis apropiada de una quinolona. A este respecto, es importante reseñar que las CMIs 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 (p.e.: AUC, C_{max}) para concentración total de fármaco.

La existencia de barreras puede dificultar la difusión de un antibacteriano 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 hemato-encefálica 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 antibacteriano y su capacidad para difundirse en tejidos a través de las barreras biológicas, ayudará a los clínicos a definir una apropiada pauta terapéutica.

Las fluoroquinolonas poseen, en general, amplios volúmenes de distribución, mayores de 1.0 L/kg (Aminimanizani y cols., 2001; Lode y cols., 1998). Hay que conocer los distintos volúmenes de los fluidos corporales a la hora de comparar dichos valores: aprox. 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 antibacteriano intersticial libre, se ha confirmado que esta concentración es comparable a la concentración del fármaco libre en plasma (Araki et al., 1997).

Por tanto, excluyendo las situaciones asociadas a la captación iónica, alcanzado el equilibrio entre sangre y 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).

Los estudios realizados por Scheer denotaban una pauta de distribución muy similar entre las especies estudiadas (bovino, porcino, perros, gatos, pollos y pavos) encontrándose fracciones de fármaco en todos los órganos y tejidos, con elevadas concentraciones (Scheer, 1987).

Los estudios farmacocinéticos en bovino demostraron una rápida y amplia distribución por el organismo, una excelente disponibilidad sistémica y una tasa de eliminación relativamente baja.

La concentración plasmática media supera ampliamente 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 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. A las 12 horas de la administración, 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 (Mengozzi 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).

En la siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos para el volumen de distribución obtenido en estado estacionario (V_{ss}) para diferentes especies animales:

Especie	V_{ss} (l/kg)	Referencia
Conejo	4,8	Elmas, 2007
Tenera	1,56	Idowu, 2010
Cabra	1,94	Elsheick, 2004
Oveja	2,7	Rahal, 2006
Caballo	2,32	M. Peyrouu, 2006
Cerdo	3,9	Pod Nielsen, 1997
Pavo	3,66	Dimitrova, 2007
Peces	3,4	F.Kock y cols., 2009
Conejos	4,8	Elmas, 2007
Gatos	4,0	Richez y cols, 1997
Perros	2,45	Cester, 1997
Burro	1,7	Sekkin, 2009
Búfalo	1,60	Khangaria, 2008

Tabla 9.- Valores obtenidos de V_{ss} para diferentes especies animales.

2.10.3.- ACLARAMIENTO PLASMÁTICO Y ELIMINACIÓN

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

1. Vía renal: orbifloxacino, ofloxacino, temafloxacino y lomefloxacino.
2. Vía hepática: difloxacino y perfloxacino.
3. Por ambas vías renal y hepática: enrofloxacino, 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 et y cols., 1990). Las biotransformaciones de estos fármacos incluyen la glucuroconjugación (moxifloxacino, grepafloxacino, cinafloxacino y esparfloxacino), la N-oxidación y la desmetilación (levofloxacino), y se llevan a cabo principalmente por el sistema del citocromo P₄₅₀ (Bergogne-Berezin, 2002). Para marbofloxacino se supone que la metabolización hepática es mínima (10-15% de la dosis administrada). La eliminación es un 40% en la orina y el resto vía biliar por las heces (Carpenter y cols., 2006).

El sistema de transportadores presente en la membrana apical 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, las concentraciones intestinales de estos antibacterianos también pueden variar en función de la secreción biliar y del establecimiento 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 glucurónico y solamente el 6-9% está sin biotransformar. La forma glucurónica es hidrolizada en intestino, dando lugar a la forma original, que es reabsorbida. Como consecuencia de esto, la semivida del difloxacino en perros tras la administración oral es de 9.4 horas.

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).

En el caso del enrofloxacino se produce una metabolización parcial a ciprofloxacino (metabolito activo), mediante procesos de N-desalquilación, y por ello, responsable de una buena parte de la actividad antimicrobiana (Kaartinene y cols., 1995; Mengozzi y cols., 1996; Küng y cols., 1993; Anadón y cols., 1995).

El metabolismo es fundamentalmente hepático, pese a producirse en diversos lugares 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 expone una tabla con los diferentes valores de aclaramiento plasmático en las diferentes especies animales:

Especie	Referencia	Cl (L/h·kg)
Conejo	Elmas, 2007	1,7
Ternera	Idowu, 2010	1,45
Oveja	Otero y cols, 2009	4,83
Cabra	Elsheikh y cols,2002	11,72
Caballo	M.Peyrouu, 2006	6,34
Pavo	Dimitrova, 2007	6,80
Cerdo	Pijpers y cols., 1997	0,48
Pollo	Garcia Ovando, 1999	3,30
Peces	Fkock y cols, 2009	0,14

Gatos	Richez y cols,2009	9,5
Perros	Cester, 1999	0,729

Tabla 10.- Valores de Cl en diferentes especies animales

2.10.4.- DIFERENCIAS ENTRE ESPECIES DE LAS FLUOROQUINOLONAS

Existen importantes diferencias farmacocinéticas entre especies en las distintas fluoroquinolonas. Cox y cols. (2004) analizaron las relaciones alométricas para el 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:

$$Cl = 20.6 \text{ (mL/min)} \times BW^{0.815}, r = 0.95, \quad V_{ss} = 3.5 \text{ (L)} \times BW^{0.947}, r = 0.93.$$

En el mismo estudio, Cox y sus compañeros examinaron también las relaciones alométricas para enrofloxacin. El gráfico resultante de la representación de log BW 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 las relaciones alométricas para el Cl y el V_{ss} . Particularmente, pueden ocurrir grandes errores de extrapolación cuando intentamos predecir parámetros farmacocinéticos en grandes especies como el caballo y o la vaca, siendo necesario incluir animales de elevado peso en el análisis de regresión para compensar dichos errores (Mahmood, 2007). También hay numerosos casos en que ecuaciones con bajos valores de r predicen extrapolaciones de forma muy precisa para especies animales desconocidas (Mahmood, 2001).

En otro estudio, Cox (2007) analizó las relaciones alométricas para moxifloxacin, danofloxacin, difloxacin y marbofloxacin, obteniendo, para este último, en vacuno, cerdo, oveja, perro, cabra, caballo y gato las siguientes relaciones estimadas:

$$Cl = 1.96 \text{ (mL/min)} \times BW^{1.13}, r = 0.96, \quad V_{ss} = 1.34 \text{ (L)} \times BW^{1.01}, r = 0.99.$$

Estas relaciones indican que el aclaramiento y el volumen de distribución en estado estacionario se correlacionan muy bien con el peso corporal ($r \geq 0,96$), y que puede asumirse proporcionalidad entre dichos parámetros farmacocinéticos con el peso corporal.

En la siguiente tabla se muestran diferentes valores de semividas en la fase terminal ($t_{1/2\lambda z}$) y biodisponibilidad (F), para diferentes fluoroquinolonas (AliAbadi y Lees, 2002, Carretero y cols., 2002, Fernández-Varón et al., 2006a, Greene y Budsberg, 1993, Mann y Frame, 1992)

	Enrofloxacinó		Danofloxacinó		Marbofloxacinó	
	F_{PO} (%)	$t_{1/2}$ (h)	F_{IM} (%)	$t_{1/2}$ (h)	F_{IM} (%)	$t_{1/2}$ (h)
Pollo	101	15.6				
Pavo	61	3.9				
Ternero	8	15.4	78	2.9	103	4.7
Cerdo			76	6.8		
Oveja			95.7	3.35		
Caballo	60	5.6	88.5	5.36	88	4.7
Cabra					100	7.2

Tabla 11.-Valores de semividas ($t_{1/2\lambda z}$) y biodisponibilidad (F), para diferentes fluoroquinolonas

2.10.5- DIFERENCIAS ENTRE ESPECIES DE ENROFLOXACINO

A continuación, en la Tabla 12 se muestran los distintos parámetros farmacocinéticos de marbofloxacino obtenidos en diferentes especies animales. En ella, se han reflejado los datos de los estudios más recientes.

Especie	Vía	$t_{1/2\lambda z}$ h	V_c L/kg	V_{ss} L/kg	Cl L/h·kg	AUC_{∞} mg·h/ L	MRT h	C_{max} mg/L	t_{max} h	F %
Conejo	IV	3,0		4,8	11,7	3,2				
	IM	2,4				2,7		1,9	25	0,9
	VO	2,41					8,46	0,45	2,3	
Oveja	IV	3,73		3,02			5,36			
	IM	3,65					5,23	0,78	1,25	
Ternera	IV	3,69	0,79	1,56	1,45	3,62	1,05			
	IM	6,8				14,95		0,96	4,8	
	SC	5,55					8,4	0,98	3,20	
Cabra	IV	0,73	0,773	1,27	1,33	1,91	0,97	0,20	0,95	
	SC	12,41		3,02	0,32	15,43	5,78	1,9	2,4	68,61
	IM	4,70		1,51	0,26	19,07	5,75	3,25	1,09	90
Caballo	IV	6,15		2,32	6,34	13,78	6,35			
	IM	9,9		2,3	0,51	25,2	15,0	1,28	2,67	100
	VO	6,97		2,32	6,34	7,77	10,16			55,0
Burro	IV	9,54		1,7			7,46			

	IM	12,08		1,7			17,85	0,8	2,58	76,56
Cerdo	IV	7,73		2,66	4,45	7,9	9,75			
	IM	5,49		3,13	0,48	5,5	7,64	0,75	0,92	
	VO			3,9	0,37	28,2	14,1	2,4	2,9	101
Pavo	IV	6,64		3,57	6,8	25,91	8,96			
	VO	6,92		3,66	9,54	18,11	11,91	1,22	6,33	69,2
Peces	IV	19,14		3,4	0,14	70,87				
	VO	3,03				54,95		2,3	8	78
Pollos	IV	5,56		3,9	10,3	16,17	6,38			
	VO	5,81				14,42	7,58	1,88	1,5	89,2
Conejos	IV	3,0		4,8	1,7	3,2				
	IM	2,4				2,7		1,9	0,41	87,0
Búfalo	IV	1,27		1,6	0,87	5,73	1,84			
Avestruz	IM	2,85			3,95	4,18	1,95	3,3	0,24	
Perro	IV			2,45	0,72		3,47			
	VO	2,7		2,6			4,5	1,44	1,8	89,9
Gato	IV	6,7		4	9,5	7,18	8,6			
	IM	6,2		3,1	7,1	7,24	8,7	1,66	0,6	

Tabla 12.- Parámetros farmacocinéticos de enrofloxacinó obtenidos en diferentes especies animales.

2.10.6- 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 el caso del ganado caprino, los regímenes de dosificación son normalmente extrapolados de parámetros farmacocinéticos de ovino y bovino, pudiendo dar lugar a dosis.

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).

2.11.- INTERACCIONES

Las siguientes interacciones medicamentosas han sido documentadas o son teóricamente posibles en las personas o en los animales que reciben enrofloxacino u otras fluoroquinolonas:

2.11.1.-RELACIONADAS CON LA ESTRUCTURA DE LA MOLÉCULA:

1º Interacciones con las xantinas en presencia de radicales pequeños y lineales (ciclopropilo o etilo) unidos al N-1.

2º Interacción entre AINES y el sustituyente presente en la posición C7. Aumenta en aquellas que no presentan sustituciones en el anillo piperacínil (como ciprofloxacino, enoxacino y norfloxacino). La interacción con las xantinas se produce también a este nivel, en el caso de radicales pequeños y lineales mientras que en los más voluminosos la disminuyen (Domagala, 1994).

3º 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).

2.11.2.-INTERACCIONES A NIVEL DE LA ABSORCIÓN:

1º Interacción con productos que contengan cationes multivalentes como Mg^{2+} , Al^{3+} y Ca^{2+} (antiácidos, productos lácteos o complejos multivitamínicos o sucralfato) mediante la formación de quelatos, y la reducción de su absorción. Se debe separar su administración oral al menos 2 horas antes o 4-6 horas después de la dosis de fluorquinolona (Shiba y cols., 1992).

2º La absorción de ciprofloxacino se ve afectada negativamente, con una disminución del 26-29% en plasma de la $C_{máx}$ 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).

2.11.3.-INTERACCIONES A NIVEL DEL METABOLISMO:

1º Aumento de los niveles de xantinas (teofilina y cafeína) por disminuir el aclaramiento de las mismas (inhibición de su metabolismo) debido a la inhibición de la isoenzima 1A2 del sistema citocromo P450 por las fluoroquinolonas, provocando un aumento a nivel del sistema

nervioso central de las xantinas y la estimulación cardiaca. Intorre y cols. (1994) estudiaron la interacción enrofloxacino-teofilina y confirmaron que el enrofloxacino disminuye el aclaramiento hepático y aumenta la semivida de eliminación de la teofilina, dando lugar a un aumento de sus concentraciones séricas. Sucede de forma similar en el ácido pipemídico y la enoxacina (40% de aumento de la concentración); ciprofloxacino (5%); y norfloxacino, ofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino y gatifloxacino apenas modifican las concentraciones plasmáticas de este fármaco (Gobernado y Santos, 2002).

2º Aumento de los niveles de warfarina y digoxina por inhibición de ciertas enzimas hepáticas por algunas fluoroquinolonas con 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).

3º Ciprofloxacino y norfloxacino disminuyen el aclaramiento de ciclosporina, aumentando sus concentraciones séricas (Davis y cols., 1996; McLellan y cols., 1995).

4º 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).

5º El enrofloxacino 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).

6º Metotrexato. Es posible un aumento de sus niveles con la correspondiente toxicidad (Plumb, 2010).

7º 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 grepafloxacino y por tanto obteniéndose niveles del mismo subterapéuticos. Pirazinamida y cicloserina interaccionan con ofloxacino 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).

8º Ciclosporina. Las fluoroquinolonas pueden exacerbar la nefrotoxicidad y reducir el metabolismo de la ciclosporina (usadas vía sistémica) (Plumb, 2010)

2.11.4.-INTERACCIONES A NIVEL DE LA EXCRECIÓN:

1º La Cimetidina inhibe la secreción tubular renal de las fluorquinolonas disminuyendo con ello su aclaramiento, produciéndose en mayor medida en aquellas de mayor eliminación vía renal (levofloxacin, ciprofloxacino, lomefloxacino, sparfloxacino, gatifloxacino) (Fish, 2001).

2º Probenecid puede inhibir, al igual que cimetidina, la secreción tubular renal de las fluorquinolonas eliminadas principalmente por excreción renal (Aminimanizani y cols., 2001). El probenecid se segrega en los túbulos renales mediante un mecanismo activo y posee una alta afinidad por el transportador de aniones; de este modo, compete y puede bloquear la excreción de muchos ácidos orgánicos. El valor del aclaramiento renal de ciprofloxacino disminuye alrededor del 50% cuando se administra 1 g de probenecid vía oral antes de un comprimido de ciprofloxacino (500 mg), aunque no se modifican los valores de AUC o $t_{1/2}$. Este efecto también se ha observado con enoxacino, norfloxacino y fleroxacin, y es posible que también ocurra con otras fluorquinolonas cuya excreción se produzca principalmente por orina mediante secreción tubular activa. (Gobernado y Santos, 2002; Stockley, 2004).

3º Flunixin. En los perros se ha demostrado un aumento del AUC y la semivida de eliminación de enrofloxacino, y éste último a su vez aumenta el AUC y la semivida de la flunixin, se desconoce si existen interferencias con otros AINEs (Plumb, 2010).

2.11.5.-OTRAS INTERACCIONES:

1º Las fluorquinolonas se antagonizan con macrólidos y tetraciclinas frente a estreptococos y enterococos y en general antagonizan también al cloramfenicol (Otero y cols., 2001b).

2º Algunos antibióticos como aminoglucósidos, cefalosporinas de tercera generación y penicilinas de amplio espectro, pueden producir sinergismo contra algunas bacterias (en particular, *Pseudomonas aeruginosa*), pero no es predecible. Aunque marbofloxacino tiene mínima actividad contra microorganismos anaerobios, se ha informado del desarrollo de sinergismo *in vitro* cuando se asocia con clindamicina contra cepas de *Peptostreptococcus*, *Lactobacillus* y *Bacteroides fragilis* (Plumb, 2010).

3º Interacciones del ciprofloxacino con el foscavir dando lugar a un aumento de la frecuencia de convulsiones, por un mecanismo mediado por receptores GABA (Matsuo y cols., 1998).

4º Interacciones con AINES por inhibición competitiva de los receptores GABA por las fluoroquinolonas (Radandt y cols., 1992). Se han notificado casos de convulsiones cuando se administró enoxacino con fenbufeno (Christ, 1990). 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 fluoroquinolonas (Fish, 2001).

5º 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). 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).

6º 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).

7º Gliburida. Es posible la presentación de hipoglucemias graves (Plumb, 2010).

2.11.6.-INTERACCIONES CON LOS ALIMENTOS:

Cuando las fluoroquinolonas 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 ve modificada, y las alteraciones en los índices de absorción se consideran clínicamente insignificantes (Fish, 2001).

En el caso del enrofloxacin vienen descritas las siguientes interacciones (Ficha técnica de Roxacin®, 2008):

- Producen un antagonismo del efecto de las tetraciclinas.

- Provocan un aumento de la toxicidad tras la administración conjunta con sulfametoxazol-trimetoprim.
- Presenta una reducción de la absorción a nivel gastrointestinal con metales divalentes (magnesio) y trivalentes (aluminio)
- No está recomendada su administración conjunta con fármacos con un elevado grado de unión a proteínas plasmáticas como: ácido acetilsalicílico, hidrocortisona, fenilbutazona y sulfamidas; debido a la posibilidad de desplazar la unión a las proteínas plasmáticas, aumentando la fracción libre de fármaco en sangre.

2.12.-TOXICIDAD Y EFECTOS ADVERSOS

En general, las quinolonas son antibacterianos bien tolerados, aunque con algunas excepciones. El tanto por ciento medio de reacciones adversas a las quinolonas es bajo, aunque oscila mucho entre cada par quinolona-efecto adverso (Gobernado et al., 1999). Las quinolonas fluoradas comparten algunas características, entre ellas, el perfil de efectos adversos. La similitud en estas características tiene su origen en la presencia de partes comunes en su estructura química (Azanza et al., 2000; Mandell et al., 2001).

Los problemas relacionados con estos quimioterápicos, pueden observarse en el aparato digestivo, la piel, el riñón, el sistema musculoesquelético, el sistema cardiovascular y el sistema nervioso central (SNC), manifestándose por náuseas, vómitos, diarreas, dolor abdominal, anorexia, elevación de las transaminasas, ictericia colostática, hepatitis, eritema, prurito, fotosensibilidad, cristaluria, hematuria, elevación de las cifras de urea, artropatías, tendinitis, taquicardia, alargamiento del intervalo QTc en el electrocardiograma, insomnio, cefaleas, temblores y convulsiones.

Algunas quinolonas, no obstante, son capaces de causar efectos graves o con tasas superiores a otros antibacterianos usados como alternativas, lo que ha supuesto su eliminación del arsenal terapéutico: fleroxacino por fototoxicidad y toxicidad sobre el SNC, trovafloxacino por alteraciones hepáticas graves, grepafloxacino por alteraciones en el ritmo cardíaco (espacio QTc del electrocardiograma), temafloxacino por causar anemia hemolítica grave, además de

clinafloxacino el cual se asoció a fototoxicidad e hipoglucemia (Ball, 2000; Fish, 2001; Rubinstein., 2001; Emmerson y Jones, 2003).

Cada fluorquinolona tiende a producir ciertos efectos adversos, diferencias que pueden ser explicadas por las características estructurales (Domagala, 1994). Por tanto, y teniendo en cuenta la estructura química, y el farmacóforo mostrado para las quinolonas en general, y las fluoroquinolonas en particular (figura 7), podemos describir la relación entre la estructura química y el perfil de efectos adversos (Azanza y cols., 2000; Ball, 2000; Mandell y cols., 2001):

Tipo de reacción adversa	Intensidad
R ₁ Interacción con xantinas	Ciclopropil>CH ₃ CH ₂ >difluorofenil>FC ₂ H ₅
R ₅ Fotosensibilidad y Genotoxicidad	CH ₃ >>H>NH ₂ y CH ₃ >NH ₂ >H
R ₇ Neurotoxicidad Interacción con AINE Interacción con xantinas	Piperazinil> ciclopropil>>otros Piperazinil>> ciclopropil>>otros Ciclopropil>> piperazinil>>otros
X ₈ Determinante mayor de Fototoxicidad y de Genotoxicidad	CF > CCl> N> CH> COMe, CCF CF > CCl≥ COMe >N> CH

Tabla 13.- Relación entre la estructura química y el perfil de efectos adversos en las quinolonas.

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: influyen en la genotoxicidad de las quinolonas los radicales unidos al N-1. 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 5: inducción de fototoxicidad y genotoxicidad: los grupos metilo (grepafloxacino), hidrógeno (ciprofloxacino) y grupo amino (sparfloxacino), interviniendo de una manera importante el sustituyente presente en posición C8 (Domagala, 1994).

-Sustituciones en posición 7: está relacionado con los efectos sobre el SNC, por su unión con los receptores del GABA. 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).

-Los efectos adversos más frecuentes son: cefaleas, alteraciones del ritmo del sueño, alteraciones del humor, vértigo y convulsiones (Wolfson y Hooper, 1991; Domagala, 1994).

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

- Genotoxicidad: el anillo pirrolidinil es más citotóxico que el piperacinil, 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 piperacinil en el C7 está relacionado con eritema, urticaria, prurito, erupción (Norrby, 1991).
- **Sustituciones en posición 8:** Los cambios en X8 están relacionados con la genotoxicidad y la fototoxicidad (Lipsky y Barker, 1999): El radical más genotóxico es C-F, seguido en orden por: C-Cl, C-OCH₃, N, C-CF₃ y C-H. La fototoxicidad se produce con 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 > CF₃ > C-OR.
- **Otros efectos adversos relacionados con la estructura:** Cristaluria y nefrotoxicidad: grupos alquilo en la posición C7 (CF, CCl, CCF₃) como en C8 mejora la solubilidad en agua. En cambio, radicales con grupos amino favorece la cristaluria (Rosen y cols., 1988).

2.12.1. REACCIONES ADVERSAS GASTROINTESTINALES

Las alteraciones gastrointestinales son comunes a todas las quinolonas, la mayoría de las veces leves y reversibles, y son las que se presentan con mayor frecuencia. El malestar gastrointestinal parece estar causado por una combinación entre irritación gástrica directa e influencia sobre el SNC, sin que se haya demostrado una asociación entre estos efectos adversos y estructuras químicas específicas (Mandell, 2001). Se producen en un 5-13% de los enfermos, manifestándose como náuseas, vómitos, anorexia, dispepsia, alteración del gusto, dolor abdominal y diarrea (Gobernado y Santos, 2002).

También han sido descritos casos de diarrea asociada a *Clostridium difficile* (DACD) a consecuencia de la administración de fluoroquinolonas como ciprofloxacino, gatifloxacino o levofloxacino (McCusker y cols., 2003; Gaynes y cols., 2004).

2.12.2. REACCIONES ADVERSAS SOBRE SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Los efectos sobre el sistema nervioso central, son los más comunes después de los gastrointestinales, con una incidencia que oscila entre el 0,9% y el 7,4%. Se manifiestan por cefalea, mareos leves, convulsiones, fatiga, insomnio, confusión y agitación (Cohen y cols., 2001).

Las convulsiones son muy infrecuentes y generalmente ocurren en pacientes con factores predisponentes a padecerlas, pero a su vez son de gran interés. Su aparición podría ser consecuencia la unión de las quinolonas, a concentraciones hísticas elevadas, al receptor del ácido gamma-aminobutírico (GABA), dando lugar a la estimulación del SNC. También podría deberse a la activación de los receptores de aminoácidos estimulantes y modificación en los receptores de adenosina. Esta estimulación está relacionada directamente con la estructura de la quinolona y los sustituyentes presentes en la posición 7 de la molécula influyen de manera considerable en la producción de dichas reacciones adversas.

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).

Estos efectos adversos pueden potenciarse por las interferencias con otros fármacos sobre el mismo receptor o por interacción medicamentosa general (Azanza y cols., 2000).

2.12.3. REACCIONES DE HIPERSENSIBILIDAD

De forma similar a otros fármacos y antibacterianos se han producido reacciones de alergia a fluorquinolonas en diferentes estudios clínicos en el 0,6-1,4% de los pacientes. Los cuadros clínicos producidos fueron principalmente: eritema, prurito, urticaria y erupción cutánea, causadas por cualquier reacción alérgica o mediante la liberación de histamina (Stahlmann, 1990). De forma excepcional (incidencia < 2/100.000), se han descrito reacciones anafilácticas y anafilactoides. Los antecedentes alérgicos a uno de los fármacos de este grupo contraindican, en principio, la utilización del resto de esta familia (Azanza y cols., 2000).

2.12.4. REACCIONES DE FOTOSENSIBILIDAD Y DERMATOLÓGICAS

La exposición a la luz solar en el curso del tratamiento con algunas quinolonas fluoradas puede producir una reacción de fotosensibilidad. El término fotosensibilidad comprende tanto las reacciones fotoalérgicas como las fototóxicas (Fish, 2001).

Las reacciones fotoalérgicas son raras y requieren la exposición previa de la fluoroquinolona, además, son dependientes de la presencia de sustituyentes fotohapténicos (Fish, 2001).

En contraste, las reacciones fototóxicas son más frecuentes, y se presentan en forma de eritema o de erupción bullosa grave (Fish, 2001). Pueden aparecer en apenas unas horas tras la administración de la quinolona junto con la exposición directa e indirecta a la luz solar o a radiación UV. Estas reacciones disminuyen tras la supresión del fármaco, aunque suelen reaparecer al cabo de unas 3 semanas debido a su larga semivida de eliminación y la elevada penetración tisular (Domagala, 1994).

De mayor a menor gravedad de producir fototoxicidad, las fluorquinolonas se clasifican de la siguiente manera: lomefloxacin > sparfloxacin > 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).

2.12.5. REACCIONES ADVERSAS MUSCULOESQUELÉTICAS

Las reacciones adversas musculoesqueléticas hacen referencia a las artropatías y a la tendinitis.

Todas las fluoroquinolonas pueden producir alteraciones del cartilago articular en animales jóvenes cuando se administran a dosis elevadas, por lo que se sospecha que puede tratarse de un efecto adverso propio del grupo farmacológico. La incidencia no supera el 1% con ninguno de los fármacos (Mandell y cols., 2001), sin embargo, su uso está restringido en la población pediátrica (Chalumeau y cols., 2003).

La administración intraarticular de quinolonas produce necrosis de los condrocitos y erosiones con formación de cavidades. Se sospecha que el mecanismo es una disfunción mitocondrial generada por la inhibición de la síntesis de ADN y de la actividad del glucosaminoglicano en el cartilago articular inmaduro (Fish, 2001).

La artritis producida por quinolonas se presenta con mayor frecuencia en pacientes menores de 30 años. Sus características clínicas son la presencia de inflamación y dolor articular que afecta a una o varias articulaciones y que se presenta coincidiendo con el inicio del tratamiento. Excepcionalmente, se ha descrito evolución a la cronicidad, ya que el curso habitual es hacia la resolución completa en algunas semanas (Fish, 2001).

Además de las artropatías, estos antibacterianos se han implicado en la etiología de tendinitis y ruptura de tendones de mano, hombros y principalmente del tendón de Aquiles, siendo la afectación tanto bilateral como unilateral. Los enfermos de más riesgo son los sometidos a tratamientos largos, uso concomitante de esteroides y los atletas, aunque con incidencia baja, 0,3%. Las modificaciones estructurales moleculares de las fórmulas de estos fármacos no mejoran este efecto secundario, que es común, en mayor o menor grado, a todas las quinolonas, considerándose un cuadro clínico propio de esta familia de fármacos (Azanza y cols., 2000).

2.12.6. REACCIONES ADVERSAS OCULARES

Se han descrito reacciones adversas oculares en animales de experimentación, cuando se administran en altas dosis pefloxacino y ácido nalidíxico. Los cuadros clínicos más frecuentes son: cataratas, punteados opacos en el cristalino, cambios morfológicos de la retina, y alteración de la agudeza visual (Fish, 2001).

2.12.7. REACCIONES ADVERSAS EN EL APARATO 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). Se ha visto elevación de los niveles de creatinina entre el 0,2 y el 1,0% de los enfermos tratados con quinolonas. Excepcionalmente, se ha descrito algún caso de cristaluria, relacionada con el grado de solubilidad de la quinolona y el pH urinario, y fallo renal, por acción directa o por reacción de hipersensibilidad en adultos mayores de 60 años (Mandell y cols., 2001). Efectos no descritos con las nuevas fluoroquinolonas (Fish, 2001).

2.12.8. REACCIONES ADVERSAS CARDIACAS

Tanto después de la administración i.v. como p.o. de fluoroquinolonas, se ha observado prolongación del intervalo QTc, especialmente con esparfloxacino y grepafloxacino (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* (Fish, 2001).

Esparfloxacino produjo una prolongación del QTc de 500 milisegundos en el 1,2-3% de los pacientes tratados. Además se describieron siete pacientes con arritmias cardiacas que se relacionaron con el tratamiento. Aparentemente, los cambios se relacionaron directamente con la dosis administrada. La relación de grepafloxacino con algunos casos de prolongación del QTc, fue la causa de su retirada (Azanza y cols., 2000).

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

2.12.9. REACCIONES ADVERSAS HEMATOLÓGICAS.

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 la causalidad. Con excepción de

temafloxacino, es raro que se asocie anemia hemolítica con el uso de estos antibacterianos (Fish, 2001).

2.12.10. CARCINOGENICIDAD Y TERATOGENICIDAD

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. No obstante, no se ha descubierto en el ser humano ningún efecto carcinogénico, probablemente porque la enzima humana es estructuralmente y funcionalmente distinta: sólo tiene 2 subunidades, en vez de 4, posee distinto peso molecular, 172 kDa, y carece de actividad sobre el enrollamiento del ADN; por consiguiente, estas supuestas alteraciones no deberían manifestarse en el ser humano, y de producirse, ocurrirían a concentraciones de quinolona muy altas (Gobernado y Santos, 2002).

En cuanto a los efectos teratogénicos, ha sido descrito pérdida de peso fetal y un aumento de la mortalidad fetal con levofloxacino en ratones, 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).

2.12.11. REACCIONES ADVERSAS HEPÁTICAS

Todas las fluoroquinolonas se han relacionado con alteraciones de la función hepática con una frecuencia del 2-3%. El cuadro más frecuente consiste en una elevación de la cifra de transaminasas, que cursa de forma asintomática y que se ha descrito globalmente con una incidencia en torno al 2-3%. En la práctica totalidad de los casos, se trata de un hallazgo casual que desaparece con rapidez al suspender la administración del fármaco. 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.

Trovafloxacinó es una fluorquinolona con una hepatotoxicidad conocida clínicamente significativa (Wolfson y Hooper, 1991; Lietman, 1995; Lipsky y Baker, 1999).

2.12.12. REACCIONES ADVERSAS DESCRITAS CON ENROFLOXACINO

- **Efectos hepáticos:** el enrofloxacinó causa, a concentraciones usadas en terapéutica, una inhibición de las enzimas hepáticas P450IA1 y IA2 (Vancutsem y cols., 1990), estimula la actividad de la P450IIB, e 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 enrofloxacinó, superiores a 5 mg/kg/día, degeneración de retina temporal o permanente asociada a midriasis y ceguera aguda (USP Drug information, 2003).
- **Efectos musculoesqueléticos:** Enrofloxacinó inhibe la proliferación celular, induce cambios morfológicos, disminuye el contenido total de monosacáridos, y altera la síntesis de proteoglicanos en cultivos de células de tendón de caballos, (Yoon y cols., 2004). Estos efectos son más pronunciados en cultivos celulares de animales jóvenes que en adultos. Enrofloxacinó es muy irritante vía intramuscular en el lugar de administración, 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 carcinógenos y teratógenos:** Estudios realizados con enrofloxacinó sobre pruebas de teratogenicidad, embriotoxicidad y mutagenicidad, dieron resultados de completa inocuidad (Altreuther, 1998). Se han realizado ensayos clínicos en linfocitos humanos con enrofloxacinó, en los que se ha informado un posible efecto genotóxico del mismo (Gorla, 1999).

2.13.- APLICACIONES TERAPÉUTICAS DE LAS FLUOROQUINOLONAS

Las fluoroquinolonas utilizadas en medicina veterinaria en la Union Europea son (AEMPS, 2012; EMA, 2012):

FLUOROQUINOLONA	ESPECIES ANIMALES
Flumequina	Gallinas, pavos, cerdos, corderos, cabritos, terneros, salmón y trucha
Enrofloxacino	Perros, gatos, conejos, pollos, pavos, terneros, caballos y cerdos.
Orbifloxacino	Perros y gatos.
Ibafloxacino	Perros y gatos.
Difloxacino	Perros, pollos, pavos y terneros.
Danofloxacino	Bóvidos (carne y leche) y cerdos.
Marbofloxacino	Perros, gatos, cerdos y bovino (carne y leche).
Pradofloxacino	Perros, gatos.

TABLA 14.- QUINOLONAS UTILIZADAS EN MEDICINA VETERINARIA EN VACUNO, OVINO Y CAPRINO

Las fluoroquinolonas son activas frente a microorganismos asociados a infecciones respiratorias agudas en ganado, caprino y ovino, causadas por *Mannheimia 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.

El enrofloxacino es eficaz frente a *Escherichia coli*, en terneros con cuadros diarreicos o en sepsis, en infecciones experimentales respiratorias con *Pasteurella haemolytica* y *Mycoplasma bovis* y en infecciones por *Salmonella* spp (Bauditz R., 1987).

Cuando se trató con enrofloxacino 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).

Se utiliza asimismo en mastitis bovinas causadas por *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma bovis* (Walser y cols., 1993; Aduriz y cols., 1996) presenta una eficacia moderada por *Streptococcus spp.*, (Suman., 1993; Walser y cols., 1993).

EN 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*.

El enrofloxacin tiene buena actividad frente a *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) así como frente a la mayoría de los aislados de *Streptococcus suis* (Aarestrup y cols., 1998).

Se utiliza en el tratamiento del síndrome Mastitis Metritis Agalactia y en infecciones producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* y *Escherichia coli* enterotoxigénica (Otero y cols., 2001a).

EN CABALLOS:

Su uso no se recomienda en potros menores de 3 años debido a los efectos adversos que las fluoroquinolonas pueden ejercer sobre las articulaciones, como la erosión del cartílago. Son el grupo de primera elección en infecciones por bacterias gram negativas en caballos, por su uso vía oral.

Enrofloxacin se ha utilizado en la pleuritis crónica causada por *E.coli* con éxito clínico. En estos animales, también ha sido descrita la seguridad y eficacia de orbifloxacin (Walker, 2000; USP Drug information, 2003).

Los ensayos de susceptibilidad *in vitro* del tratamiento con enrofloxacin sobre 121 cepas bacterianas aisladas de equinos indicaron que el 100% de las bacterias Gram negativas

(*Escherichiacoli*, *Taylorella equigenitalis*, *Salmonella spp.*, *Klebsiellaspp.*, *Proteus spp.*, *Actinobacillus equuli*) y *Staphylococcus spp.* coagulasa positivos son susceptibles al enrofloxacin a CMI < 0.5 µg/mL. Sin embargo, la susceptibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* es variable. Para *Streptococcus equi*, *Streptococcus zooepidemicus*, y *Rhodococcus equi*, la CMI₉₀ 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 enrofloxacin (Van Duijkeren y cols., 1995).

EN PERROS Y GATOS:

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

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 piodermatitis 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 alcanzadas a nivel pulmonar permiten asegurar el éxito del enrofloxacin en infecciones de las vías respiratorias altas de los perros (Hawkins y cols., 1998) a pesar de ello,

no son totalmente eficaces cuando las infecciones son causadas por *Pseudomonasaeruginosa* (Duval y Budsberg, 1995; Walker y cols., 1992).

También enrofloxacino es eficaz en infecciones causadas por *Rickettsia rickettsii* y *Staphylococcuspp.* β-hemolíticos (Breitschwerdt y cols., 1991; Kruse y cols., 1996).

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 *Bartonellaspp.* 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).

EN AVES DE CORRAL:

En las explotaciones de aves de corral, se necesitan agentes antimicrobianos con capacidad bactericida rápida frente a los patógenos que frecuentemente se aíslan, entre los que destacan: *E. 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 *E. coli* en pollos y pavos, aunque en la actualidad, sarafloxacino ya no está autorizado en la Unión Europea. Enrofloxacino, además, también ha sido aprobado en el tratamiento de las infecciones causadas por *P. multocida* en pavos (Walker, 2000; USP Drug information, 2003).

Enrofloxacino es eficaz en tratamientos preventivos y terapéuticos de pollos con infecciones experimentales causadas por *Escherichia coli*, *Salmonella typhymurium*, *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 pssitaci*, 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 anatis*, 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).

EN CONEJOS:

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).

Si bien, en la USP Drug information, 2003, se recoge que en conejos con pasteurellosis, el enrofloxacino vía parenteral ha demostrado que puede resolver los signos clínicos en los animales infectados, pero 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 *S. 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 *S. aureus* es superior a la encontrada con levofloxacino y ciprofloxacino.

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, emus y oryx (Lewbart y cols., 1997; USP Drug information, 2003). 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*, *Vibriosalmonicida*, *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. INDICACIONES CLÍNICAS DE ENROFLOXACINO. INDICACIONES APROBADAS POR LA AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS. FICHA TÉCNICA

Según la ficha técnica, enrofloxacin 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*, *Erysipelothrix 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, 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 enrofloxacin 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 enrofloxacino.
 - No utilizar en hembras de ganado lechero de 20 meses de edad o más. El uso de enrofloxacino 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*.

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.

2.15.- 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.

2.16.- PERIODO DE SUPRESIÓN

En bovino, el periodo de supresión o tiempo de espera de enrofloxacino para el consumo de carne es de 7 días, y 9 días en el caso de porcino. En leche el tiempo de espera es de 96 horas tras la administración subcutánea para ovino y bovino.

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

- Jeringuillas de 20 ml Schippers(Copper-tip plastic Steel injectors).
- Agujas para extracción de sangre Venoject®Terumo.
- Tubos heparinizados al vacío para extracción de sangre Venojet®.
- HolderVenoject®
- Agujas hipodérmicas subcutáneas 1,5x50cm BOHVET y agujas para inyección intravenosa 0,8x40mm.
- Tubos de ensayo de varias capacidades.
- Micropipetas de varias capacidades Biohit®.
- Puntas para micropipetas de varias capacidades, estériles y sin esterilizar.
- Pipeta repetidora HandyStep®.
- Puntas de desplazamiento directo codificadas de varias capacidades Plastibrand®.
- Matraces Erlenmeyer de varias capacidades.
- Matraces aforados de varias capacidades.
- Probetas de diversas capacidades.
- Vasos de precipitado de varias capacidades.
- Viales con tapón para autoinyector 8 x 40, 1 mL, Agilent.
- Tubos Eppendorf 1,5 y 2 mL.
- Tubos de vidrio de 13mm de diámetro estériles.
- Tubos de plástico graduados estériles de 10ml.
- Placas de Petri de 10 cm de diámetro con agar Mueller-Hinton estériles.

- Placas Microtiter fondo U de poli-estireno de 96 celdillas.
- Tapas para placas Microtiter fondo U (Bioster, SL)
- Pinzas
- Guantes estériles
- Asas de siembra.
- Gradillas para recogida de tubos de recogida de sangre.
- Gasas, alcohol y solución desinfectante.
- Probetas de plástico para recogida de la leche.
- Protocolo de inyección del fármaco y tiempo de recogida de las muestras de plasma y de leche, así como el volumen de leche recogida.

3.1.2.- PRODUCTOS Y REACTIVOS

- Carboximetilcelulosa sódica (Sigma-Aldrich, USA)
- Ácido trifluoroacético (Lote:0000373039, Panreac Química, Barcelona).
- Acetonitrilo HPLC (Sigma-Aldrich, USA)
- Agua para HPLC (Sigma-Aldrich, USA)
- Metanol para HPLC (Sigma-Aldrich, USA)
- Enrofloxacin (Roxacin®, laboratorios Calier, Barcelona).
- Enrofloxacin estándar >99% (Monheim, Alemania).
- Ciprofloxacino estándar >98% (Fluka, Madrid).
- Polímero P407 (BASF, Alemania).
- Agar Mueller-Hinton II (Beckton Dickinson, Barcelona, España)
- Suero fisiológico salino (NaCl 0,9%) estéril (Braun®, Madrid, España)

-Agua estéril.

-Alcohol de 96°.

-Cepas control de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

-Cepas de *Staphylococcus aureus* procedentes de infecciones en ganado ovino.

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.

- Balanza de Precisión (Mettler-Toledo), pesada entre 0.01 y 30 mg.

-Centrífuga ALC modelo 4236.

- Sonicator Branson 2200.

- Congelador Sanyo MDF (- 45 °C) y Congelador (-80°C)

- Neveras portátiles isotérmicas.

-Colorímetro McF(Dinko®)

- Frigorífico Electrolux® modelo ER 3818C.

- Reactor encamisado Vidrafoc.

- HPLC compuesto de:

1. Detector de fluorescencia de modelo JASCO FP-920.
2. Autoinyector modelo JASCO (AS-950).
3. Desgasificador JASCO DG -1580-53.
4. Módulo mezclador JASCO LG (2080-04).

5. Horno para columnas con rango de temperaturas 4-80° C.
6. PC LG con el programa JASCO ChromPass Chromatography Data System.
7. Columna Technokroma 2,50 kromasil ID100Å C18, 5 µm 250x4,6 mm.
8. Precolumnas con la misma composición que la columna.

- Campana de flujo laminar vertical micro-V (Telstar).
- Centrífuga ALC modelo 4236.
- Replicador de inóculos Steers (Craft Machine, Inc, Cherter, Pa).
- Neveras portátiles isotérmicas.
- Horno microondas Goldstart, modelo MA-894DD.
- Espectrofotómetro de doble haz Spectronic, 2000.
- Cronómetro.
- Estufa Selecta.
- Termómetro de mercurio.
- Colorímetro.
- Autoclave.
- Mechero Bunsen de llama.

3.1.4.- SOFTWARE INFORMÁTICO

- Programa de Análisis Farmacocinético WinNonlin Professional® versión 5.2.1 (Pharsight Corporation, USA).
- Programa de Análisis Farmacocinético MULTIFIT (PROOST, 1997).

- Paquete de análisis estadístico SPSS versión 12.0.1 (Chicago, USA).
- Paquete de análisis estadístico STATGRAPHICS Plus (versión 5) Manugistics, Inc., Rockville, USA.
- Programa de gráficos PRISM 3.0 para WINDOWS (GRAPHPAD SOFT. INC.).
- Programa para simulación de estructuras químicas CHEMDRAW Ultra Versión 6.0. y CS CHEM3D STD.

3.2.-ANIMALES

Para la realización de esta tesis doctoral se ha utilizado un lote de 10 ovejas de la raza *lacona* con pesos comprendidos entre los 59 y los 96,5 kg de 2 a 4 años de edad procedentes de la Finca COSACOR de Villarrobledo (Albacete).

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.- MÉTODOS: PROTOCOLO EXPERIMENTAL

El antibiótico utilizado, enrofloxacino (Roxacin®, Calier, Madrid, España), se administró a una 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 en las dos formulaciones de liberación controlada, 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 diezovejas(2x1x1x1) en 2 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:

ADMINISTRACIÓN	IV	SC	SC1	SC2
OVEJA	1-5	5-10	1,3,5,7,9	2,4,6,8,10

Preparación de las formulaciones controladas SC1 y SC2

En el caso de las formulaciones de liberación controlada la preparación del gel se realizó mediante el método de proporción en peso con preparación en frío descrito por Schmolka (1972). Una cantidad del 25% en peso del polímero P407, suficiente para producir gel se añadió lentamente a agua fría (5 °C) manteniendo agitación constante. La dispersión se mantuvo refrigerada hasta que se formó una solución transparente (6-12 h). Una cantidad de enrofloxacin suficiente para producir una concentración del 5% se disolvió en la solución fría anterior. En el caso de la SC2 la carboximetilcelulosa se adicionó al reactor previamente a la incorporación del polímero P407 en una proporción del 2% en peso.

Administración intravenosa

La solución acuosa de enrofloxacin se administró a cada uno de los animales objetos de estudio, en la vena yugular izquierda. La dosis administrada fue de 5mg/kg de peso corporal, como dosis única. Las extracciones de sangre se realizaron en la vena yugular derecha en tubos Venoject® 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.

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.

Administraciones SC, SC1 y SC2

La administración subcutánea de la solución acuosa de enrofloxacino y de las dos formulaciones controladas SC1 y SC2 se realizó a nivel escapular, a una dosis de 5 mg/kg por peso corporal en caso de la solución acuosa (SC) de enrofloxacino, y de 15 mg/kg en el caso de las dos formulaciones SC1 y SC2, como dosis única. Las muestras de sangre se recogieron de la vena yugular a los tiempos referidos en el caso de la administración intravenosa y asimismo recibieron el tratamiento de muestra referido anteriormente tras su recogida.

Se evaluó el daño de la administración SC, en el punto de administración (previamente rasurado), 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.

Extracción de muestras de leche

Se estudió la eliminación del enrofloxacino y de su metabolito activo ciprofloxacino en la leche ovina. 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 subcutáneas SC, SC1 y SC2, mediante evacuación completa de ambas ubres.

Se midió el volumen de leche recogida en cada toma y se recogieron dos alícuotas de 2 mL para su posterior procesamiento.

Se refrigeraron previamente a $4-6^{\circ}\text{C}$ hasta su congelación a -45°C durante los 30 minutos posteriores a su recogida.

3.4.- TÉCNICA ANALÍTICA

Las concentraciones de enrofloxacinoy su metabolito activo (ciprofloxacino)en plasma y leche, fueron determinadas medianteun 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 de plasma fue el que se detalla a continuación: en un tubo con 200µL de plasma se añaden 200µL de acetonitrilo, que hace que precipiten las proteínas. Posteriormente, tras su agitación, se introducen en un baño de ultrasonidos durante cinco minutos, seguido de una centrifugación durante 10 min a 3500 rpm. Del sobrenadante se extraen 100 µL y se transfiere a un vial donde se añaden 150µL de la fase móvil a emplear para el análisis por HPLC.

La separación de los distintos componentes en el plasma se realizó utilizando una columna en fase reversa Kromasil C18 de 250 x 4.6 mm, 2.6 µm de diámetro de poro y con un volumen de inyección de 50 µL en el plasma. Tanto las muestras dentro del autoinyector (sistema Peltier) como la columna, fueron termostalizadas a 26°C. La fase móvil estaba compuesta por acetonitrilo (13%) y ácido trifluoroacético al 0.1% (87%) en el caso del plasma. La velocidad de flujo fue de 1,3ml/min. La detección se realizó a una longitud de onda de excitación de 276nm y una longitud de onda de emisión de 442nm. La duración de los cromatogramas fue de 30 minutos en el caso del plasma. La determinación se realizó en modo isocrático. La presión alcanzada no superó los 23 Mpa.

La separación de los distintos componentes en la leche se realizó utilizando la misma columna en fase reversa que en el caso del plasma con un volumen de inyección de 60 µl. La

composición de la fase móvil fue de acetonitrilo(10%) y ácidotrifluoroacético al 0.1%(90%), debido a las interferencias de ciertos componentes de la muestra. El tiempo de duración de los cromatogramas fue de 50min. El resto de las condiciones fueron similares a las empleadas en las muestras de plasma.

3.5.- VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA

Linealidad

Las curvas de calibrado se prepararon con 9 concentraciones diferentes de enrofloxacino y ciprofloxacino entre 5 y 2000 µg/L usando plasma y leche anterior a la administración del fármaco a las ovejas.

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) 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.

Se partió de una disolución de enrofloxacino puro(calidad estándar analítico) de pureza 99,8% y de otra disolución de ciprofloxacino puro(calidad estándar analítico) de pureza 99,8%.

Se preparó una disolución madre de enrofloxacino y de ciprofloxacino de 200000 µg/L. A partir de esta disolución madre se prepararon tres disoluciones más diluidas, de concentración: 50000 µg/L, 5000 µg/L, 500 µg/L. A partir de dichas disoluciones se realizaron las distintas concentraciones de la recta de calibrado: 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 y 2000 µg/L.

Linealidad del Enrofloxacinó en plasma

Concentración Enrofloxacinó plasma ($\mu\text{g/L}$)	MEDIA	SD	SD RELATIVA (RSD) (%)
5	27351,2	3105,17	11,35
10	32715,6	1873,80	5,72
25	72527	4061,39	5,59
50	158112,4	2038,67	1,28
100	325914,6	8781,63	2,69
250	747830	2763,48	0,36
500	1496760	17227,33	1,15
1000	3807825,8	7193,80	0,18
2000	8280671,8	32247,94	0,38

Linealidad del Ciprofloxacino en plasma

Concentración Ciprofloxacino plasma ($\mu\text{g/L}$)	MEDIA	SD	SD RELATIVA (RSD) (%)
25	33143,4	1412,2175	4,26
50	86212	1990,7198	2,301
100	171787,6	3511,6983	2,04
250	514622,8	3542,197	0,682
500	946368,6	2777,8379	0,29
1000	2042195,2	6583,4439	0,32
2000	4713137,6	9340,2206	0,19

A concentraciones menores de $25\mu\text{g/ml}$ no se detectaron picos en los cromatogramas para la cuantificación de ciprofloxacino en el plasma.

Linealidad del Enrofloxacinó en leche

Concentración Enrofloxacinó Leche ($\mu\text{g/L}$)	MEDIA	SD	RSD(%)
50	9,92	0,32	3,29
100	25,78	0,97	3,78
250	81,9	3,69	4,51
500	188,48	7,12	3,77
1000	387,64	10,01	2,58

Linealidad del Ciprofloxacino en leche

Concentración Ciprofloxacino Leche ($\mu\text{g/L}$)	MEDIA	SD	SDR(%)
50	6,36	0,81	12,75
100	14,8	0,43	2,90
250	42,96	1,03	2,39
500	98,54	2,37	2,40
1000	190,94	7,17	3,75

Recuperación

Los porcentajes de recuperación se determinaron comparando las áreas de los picos de los controles con distintas concentraciones de fármaco (concretamente a 50, 500 y 1000 $\mu\text{g/L}$ en el caso del plasma y de la leche), con las áreas de los picos de los estándares a las concentraciones correspondientes preparados con fase móvil. Cada punto se establece a partir de un promedio de tres determinaciones. Los porcentajes de recuperación de enrofloxacinó y de su metabolito activo (ciprofloxacino), tanto en plasma como en leche, se muestran a continuación:

Concentración (µg/L)		Recuperación(%) Enrofloxacino	Recuperación (%) Ciprofloxacino
PLASMA	50	80,50	81,40
	500	93,09	78,57
	1000	91,08	80,39
	MEDIA	88,22	80,12
LECHE	50	88,21	63,28
	500	98,63	77,17
	1000	99,00	80,51
	MEDIA	95,28	73,65

Precisión de la técnica

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 repetidas (de plasma y leche) de tres concentraciones estándar (50, 500 y 1000 µg/L) usadas para las curvas de calibrado, obteniéndose valores de RSD: en plasma, < 2% para enrofloxacino y < 4% para ciprofloxacino, y en leche, < 7,5% para enrofloxacino y < 9% para ciprofloxacino.

INTRADIA PLASMA	INTRADIA ENROFLOXACINO PLASMA			INTRADIA CIPROFLOXACINO PLASMA		
	MEDIA	SD	RSD (%)	MEDIA	SD	RSD(%)
CONCENTRACIÓN (µg/L)						
50	162213,4	2041,80	1,26	95902	4150,30	4,33
500	2068954,4	9352,47	0,45	1069529,8	5325,726	0,50
1000	3565664,8	22659,18	0,63	2191144,6	11793,24	0,54

INTRADIA LECHE	INTRADIA ENROFLOXACINO LECHE			INTRADIA CIPROFLOXACINO LECHE		
	MEDIA	SD	RSD (%)	MEDIA	SD	RSD (%)
CONCENTRACIÓN (µg/L)						
50	14,16	0,60	4,25	4,48	0,39	8,84
500	212,48	15,19	7,15	90,8	7,82	8,61
1000	384,96	15,43	4,00	167,82	10,71	6,38

La precisión inter-día se estimó mediante el análisis de tres concentraciones estándar (50, 500 y 1000 µg/L) durante tres días consecutivos. Los resultados de precisión expresados como RSD fueron los siguientes: en plasma, < 8% para enrofloxacinó y < 5% para ciprofloxacino, y en leche, < 4% para enrofloxacinó y < 8% para ciprofloxacino.

INTERDIA PLASMA		ENROFLOXACINO			CIPROFLOXACINO		
	CONCENTRACIÓN (µg/L)	MEDIA	SD	SDR (%)	MEDIA	SD	SDR (%)
	50	143446,6	16845,60	11,74	95826,4	4274,69	4,46
	500	1449567,6	86211,62	5,95	1154046,2	85181,76	7,38
	1000	3726170,4	110746,96	2,97	2247104,2	157451,71	7,00
INTERDIA LECHE	CONCENTRACIÓN (µg/L)	MEDIA	SD	SDR (%)	MEDIA	SD	SDR (%)
	50	19,6	1,2	5,95	8,72	0,9	10,33
	500	213,36	23,5	11,03	116,36	5,41	4,64
	1000	416,2	23,5	11,03	222,06	7,08	3,19

El límite de detección de enrofloxacino en plasma y leche se ha establecido para la concentración más baja que se ha podido detectar en el HPLC diferenciándolo 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 la desviación estándar relativa (RSD) es menor al 15%. El límite de detección en plasma fue de 5 µg/L y en leche fue de 25 µg/L para enrofloxacino y de 10 µg/L para ciprofloxacino en plasma y de 50 µg/L en leche. En cuanto al límite de cuantificación, en plasma fue de 5 µg/L y en leche fue de 50 µg/L para enrofloxacino y de 25 µg/L en plasma y 50 µg/L para ciprofloxacino en leche.

3.6.- ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

3.6.1.- PLASMA. ANÁLISIS COMPARTIMENTAL

Una vez obtenidas las concentraciones de enrofloxacino en plasma a los distintos tiempos de extracción tras la administración, se han ajustado los datos a las ecuaciones mono-, bi- y triexponenciales mediante el programa MULTIFIT, propuesto por Proost (1997), y basado en Yamaoka et al. (1981).

Los ajustes se han realizado utilizando el algoritmo MARQUARDT y empleando varios criterios de ponderación.

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

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

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.

A partir de las ecuaciones finales, ajustadas por los procedimientos mencionados, se han calculado los diferentes parámetros farmacocinéticos (Gibaldi y Perrier, 1982).

3.6.2.- PLASMA. ANÁLISIS NO COMPARTIMENTAL

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® (versión 5.2.1).

Finalmente, 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 intravenosa. Este parámetro quedó indicado como F.

3.6.3.- ANÁLISIS DE DATOS. LECHE.

Los datos de concentración en leche obtenidos a los diferentes tiempos fueron analizados mediante métodos no compartimentales, usando el programa informático WinNonlin Professional® (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 $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$. Se calcularon asimismo las cantidades acumuladas de enrofloxacin y de su metabolito en la leche a cada uno de los tiempos de extracción. También se calculó el porcentaje de excreción del enrofloxacin 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.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el desarrollo de este trabajo se han llevado a cabo una serie de estudios estadísticos con el fin de obtener los datos estadísticos de mayor interés 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. Además, se calcularon el coeficiente de correlación R y de determinación R^2 para comparar el ajuste entre las

concentraciones experimentales y las concentraciones teóricas para cada animal y vía de administración.

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 de enrofloxacino. Para este análisis, se ha utilizado software estadístico SPSS® versión 12.0.1, Chicago, 2003.

Para verificar la homogeneidad de las distintas concentraciones obtenidas para cada tiempo de extracción, se han realizado análisis no paramétricos de la varianza, utilizando el test de Kruskal-Wallis. Se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de fármaco no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe aceptar la primera hipótesis nula (debe haber igualdad de concentraciones entre animales) y rechazar la segunda (debe haber diferencias a lo largo del tiempo). Al comprobar la homogeneidad de las concentraciones entre distintos animales la única variación será el tiempo, por ello, habrá homogeneidad en las concentraciones a un tiempo determinado.

3.8.- ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y OBTENCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES MÍNIMAS INHIBITORIAS Y CONTROL CEPAS MUTANTES (MIC Y MPC).

Diez cepas de *Staphylococcus aureus*, las cuales fueron aisladas de leche de oveja con infecciones intramamarias en España durante 2012, fueron estudiadas. Se obtuvieron las concentraciones mínimas de enrofloxacino a las cuales era sensible el microorganismo a las dosis habitualmente usadas para cada una de ellas.

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 un máximo de 24h, el inóculo fue suspendido en solución salina al 0,9% NaCl hasta obtener una suspensión estándar de 0,5 según la escala de McFarland en el colorímetro y finalmente diluidas de nuevo 40 veces antes de su análisis en caldo de cultivo Mueller-Hinton. Las pruebas de CMI fueron realizadas en placas de poli-estireno que contienen aproximadamente 96 celdillas con fondo en U. 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 10µl de las diferentes cepas. Las placas fueron incubadas a +37°C en la estufa selecta y se observaron a las 24 horas. Se procedió a su lectura posteriormente mediante una lámpara de fluorescencia y una lupa. Para evitar diferencias de temperatura en la incubación de bloques de placas de microtitulación, se depositaron las placas individualmente, sin apilar y tapadas para evitar la evaporación. Se consideró positivo el crecimiento si había un botón de 2mm de diámetro de crecimiento del microorganismo. La interpretación de los resultados se facilitó tomando siempre como referencia el crecimiento observado en el pocillo usado como control positivo.

Se definió la concentración mínima inhibitoria como la mínima concentración que inhibía el crecimiento de los microorganismos, y se consideró aquella en la que no hay crecimiento observable.

Las cepas utilizadas como control fueron *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) y *Escherichiacoli*(ATCC 25922). Se cultivaron diariamente las cepas controles y la cepa a estudio. Las concentraciones mínimas inhibitorias de las cepas control fueron en todos los casos del mismo rango de valores.

Se estudiaron las concentraciones preventivas de mutantes resistentes en diez cepas de *Staphylococcus aureus* procedentes de infecciones intramamarias obtenidas durante el año 2012. Definida como la concentración preventiva de cepas mutantes resistentes, (CPM) es la concentración que previene el crecimiento de microorganismos cuando se utilizan inóculos con elevadas cantidades de bacterias ($\geq 10^9$), empleando el método de dilución en agar (Mouton y cols., 2005).

La CPM se considera equivalente a un inóculo de $1,0 - 9 \cdot 10^9$ CFU/mL, y para prepararlos las cepas deben cultivarse y “pre”-concentrarse porque la MPC es similar a la MIC, pero con un inóculo 10^4 veces mayor (aproximadamente).

Las CPM se obtuvieron mediante el método de dilución en placa descrito en la bibliografía (Blondeau y cols., 2001 and Firsov y cols., 2003). Tras incubar las bacterias durante 20-24h. a 37°C se recoge el crecimiento de la cepa sembrada y se diluye en un bote con 100ml de caldo de cultivo mueller-hinton y se lleva a incubación durante 24 horas. Teóricamente, después de esta incubación, el número de CFU/mL debe ser de $3 \cdot 10^8$, y debe medirse en la escala de MacFarland y proporcionar un valor aproximado de 1.00. Se toman porciones de 10 mL en tubos estériles de plástico y se centrifugan durante 30 minutos a 5000 g. Se elimina el sobrenadante y resuspenden en 3 mL de caldo de cultivo mueller-hinton. Las colonias deben ser, aproximadamente, de $N_0 \geq 10^{10}$ CFU/mL. Se agitan y se inoculan 200 μL de la cepa a estudio (CFU $N_0 \geq 10^{10}$ CFU/MI) en una placa de agar preparada con la dilución de fármaco correspondiente, en los 13 niveles de dilución establecidos siendo el inóculo final de $N_0 \geq 10^9$ CFU/mL. Se incuban las placas durante 24-48h en la estufa a 38°C . Se leen los resultados con una lupa y una luz fluorescente.

La CPM se considerará aquella concentración mínima de antibiótico en la que no se aprecia crecimiento observable del microorganismo tras la incubación durante 24-48h.

Teóricamente la CPM debe ser mayor que la CMI, pero cuanto más parecido sea el valor, es decir que el ratio CPM/CMI sea cercano a 1, menor será la capacidad de la cepa (supuestamente) de mutar y la ventana de selección de mutantes, definida como la diferencia entre CPM – CMI, menor. A menor CPM, mayor posibilidad de minimizar la aparición de resistencias, es decir, que se pueden alcanzar niveles plasmáticos de fármaco (definido por el ratio AUC_{24}/MIC_{90} y AUC_{24}/MPC_{90}) que destruyan tanto a las cepas por encima de la CMI, como a las cepas con capacidad de mutar (definidas por la CPM).

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 peso de enrofloxacin en ovejas, junto con sus valores medios y estadísticos asociados se muestran en la Tabla 1. En todos los casos, se observa cómo, 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 el gráfico 1 con la representación semilogarítmica correspondiente a cada animal, y en el gráfico 2 en escala semilogarítmica para las concentraciones medias experimentales.

Tiempo(h)	Concentración plasmática para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
0,08	13498,12	11089,70	15097,63	14756,43	18815,46	14651,47	2809,15	19,17
0,17	13551,12	9557,90	11255,06	11161,76	18095,37	12724,24	3322,59	26,11
0,25	12282,04	8102,94	12538,69	10530,65	13544,63	11399,79	2138,95	18,76
0,50	9720,88	8908,71	12951,82	8425,79	8961,46	9793,73	1825,24	18,64
0,75	7441,82	6726,26	8599,60	8369,48	7203,27	7668,09	792,77	10,34
1,00	6333,64	5980,63	6191,73	6513,41	7132,78	6430,44	438,42	6,82
1,50	4660,82	5302,82	5587,43	4588,26	4368,27	4901,52	517,67	10,56
2,00	3673,98	5069,26	4471,23	3763,94	2711,84	3938,05	889,88	22,60
4,00	1592,26	2813,58	3355,03	1550,54	1461,77	2154,63	871,26	40,44
6,00	659,45	1388,72	1317,47	1204,68	993,58	1112,78	294,19	26,44
8,00	410,70	958,65	982,78	812,05	480,61	728,96	267,89	36,75
10,00	201,97	613,22	596,80	362,32	365,02	427,87	174,77	40,85
12,00	154,91	457,38	441,02	299,62	311,27	332,84	122,92	36,93
24,00	36,23	103,84	94,63	134,63	153,49	104,56	44,91	42,95
32,00	14,69	68,75	5,69	80,33	117,05	66,50	37,60	56,54
48,00	0,00	20,49	9,36	29,35	33,76	23,24	10,78	46,37

TABLA 1.- ENROFLOXACINO IV PLASMA. Concentraciones plasmáticas experimentales de enrofloxacin en función del tiempo (h), expresadas en mg/L, en cada oveja tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg junto con los parámetros estadísticos asociados.

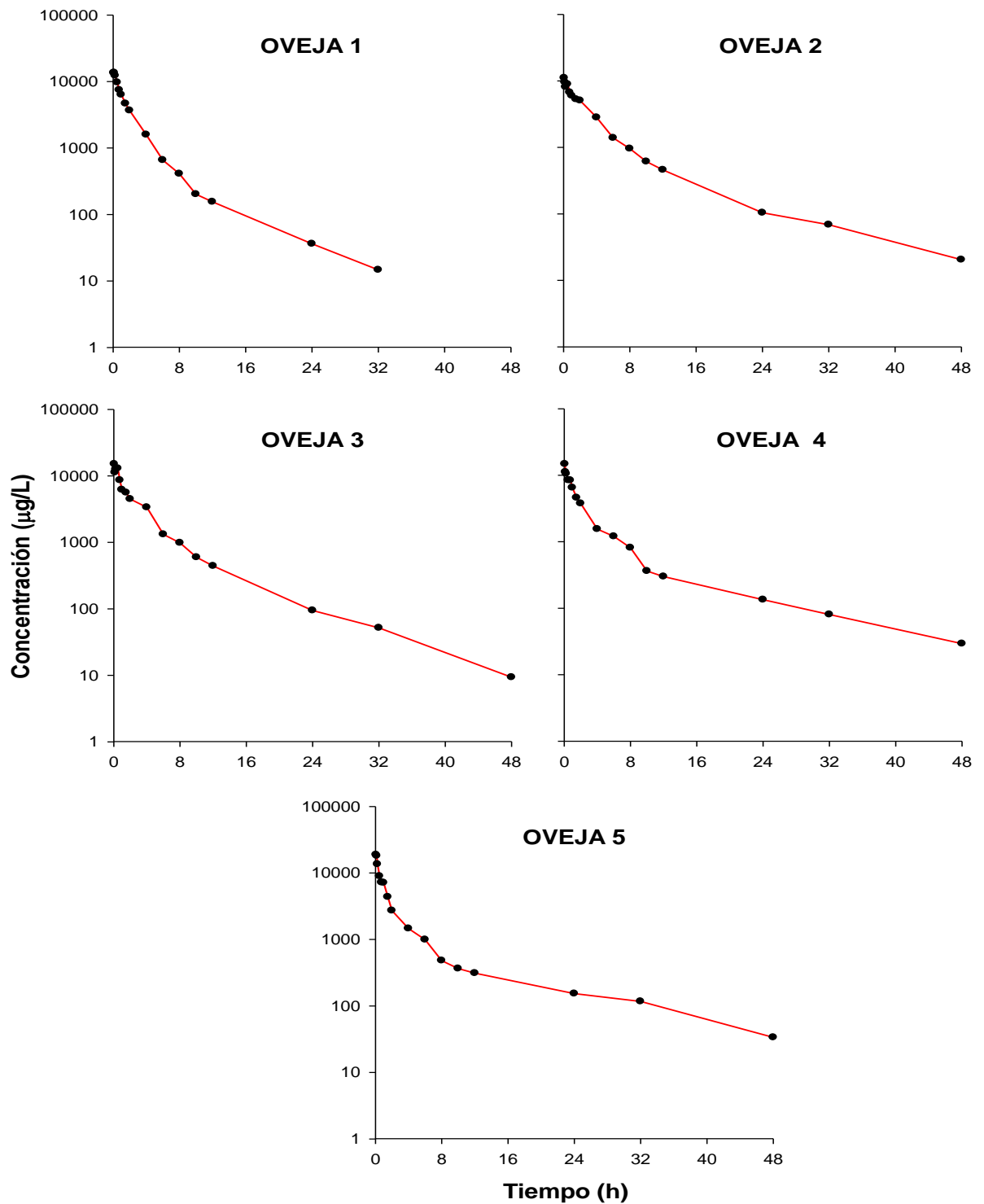


Gráfico 1.-ENROFLOXACINO IV PLASMA Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de enrofloxacin obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg a cada oveja.

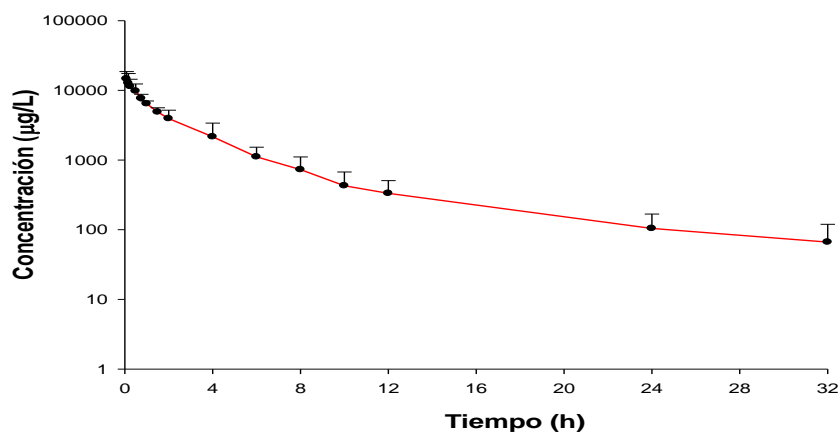


Gráfico 2.-ENROFLOXACINO IV PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacin obtenidas en ovejas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de enrofloxacin no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 2). Una vez comprobada la no existencia de diferencias significativas entre animales, la única fuente de variación será el tiempo, por lo que se manifiesta homogeneidad a un tiempo determinado en las concentraciones.

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

TABLA 2.- ENROFLOXACINO IV PLASMA. Test estadístico de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin tras la administración intravenosa de una dosis de

5mg/kg a ovejas. * Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

Estudiada la homogeneidad de los datos, se ha procedido al ajuste de los mismos a modelos compartimentales, mediante regresión no lineal, utilizando el Criterio de Información de Akaike AIC (Yamaoka y cols., 1978). Los datos obtenidos se ajustan mejor a un modelo bicompartimental en el que las concentraciones se ponderan respecto a su inverso al cuadrado.

Los parámetros derivados de dicho modelo, para cada animal, junto con los parámetros estadísticos asociados, se muestran en la Tabla 3, mientras que en la Tabla 4 se muestran los resultados del estudio farmacocinético no compartimental, para cada animal junto con los parámetros estadísticos asociados.

Parámetros	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
C₀ (mg/L)	13498,12	12866,99	20252,08	19508,77	19564,21	17138,04	3629,56	21,18
C₁ (mg/L)	11905,50	8615,26	10511,98	10776,69	15055,63	11373,01	2374,21	20,88
C_z(mg/L)	633,35	619,64	1383,58	700,79	794,74	826,42	319,08	38,61
t_{½ λ1} (h) *	1,14	2,05	1,48	1,26	0,76	1,21	-	-
t_{½ λz}(h) *	5,85	9,75	6,60	10,33	10,57	8,11	-	-
λ₁ 1/h	0,61	0,34	0,47	0,55	0,91	0,57	0,21	36,85
λ_z(1/h)	0,12	0,07	0,10	0,07	0,07	0,09	0,02	28,73
k₁₀ (1/h)	0,50	0,27	0,33	0,38	0,55	0,41	0,12	28,64
k₁₂ (1/h)	0,08	0,05	0,09	0,14	0,31	0,13	0,10	77,55
k₂₁ (1/h)	0,14	0,09	0,15	0,10	0,11	0,12	0,03	22,96

TABLA 3.-ENROFLOXACINO IV PLASMA. Parámetros farmacocinéticos bicompartimentales deducidos tras la administración intravenosa de enrofloxacino, a dosis de 5 mg/kg, a cada una de las ovejas a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste, junto con los parámetros estadísticos asociados.

*: *Media armónica de los valores calculados para las semividas en las fases de disposición rápida y lenta.*

Parámetros	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
AUC₀₋₂₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)	24786	33142	36358	28503	27655	30089	4614	15,34
AUC_{0-∞} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)	25105	34744	37414	30617	30304	31637	4704	14,87
MRT (h)	3,14	5,86	4,77	6,42	6,87	5,41	1,49	27,58
Cl (L/kg/h)	0,20	0,14	0,13	0,16	0,16	0,16	0,03	15,58
V_{ss} (L/kg)	0,62	0,85	0,68	1,06	1,23	0,89	0,26	28,87
V_z (L/kg)	1,73	1,99	1,30	2,57	2,45	2,01	0,52	26,04

TABLA 4.-ENROFLOXACINO IV PLASMA. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada oveja tras la administración intravenosa de enrofloxacin a dosis de 5 mg/kg, junto con los parámetros estadísticos asociados.

4.2. CIPROFLOXACINO TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE ENROFLOXACINO

Tiempo(h)	Concentración plasmática para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
0,08	68,20	26,33	51,81	69,70	102,23	63,65	27,74	43,58
0,17	98,79	46,50	34,67	106,35	236,80	104,62	80,28	76,73
0,25	113,05	60,64	59,88	105,67	275,72	122,99	88,88	72,26
0,50	145,15	65,62	124,39	168,47	323,69	165,46	96,32	58,21
0,75	189,01	70,90	143,91	218,85	358,27	196,19	106,38	54,22
1,00	186,06	99,20	163,54	234,54	399,29	216,53	113,17	52,27
1,50	225,15	109,75	205,93	204,59	347,56	218,60	84,97	38,87
2,00	264,24	160,45	243,19	207,53	230,90	221,26	39,71	17,95
4,00	209,87	119,80	200,24	124,29	103,57	151,55	49,56	32,70
6,00	86,31	77,50	105,29	39,41	33,77	68,46	30,84	45,05
8,00	51,60	50,27	82,51	24,70	19,36	45,69	25,23	55,22
10,00	21,72	32,59	39,46	23,71	16,33	26,76	9,20	34,39
12,00	9,50	26,70	30,49	21,26	13,80	20,35	8,73	42,90
24,00		6,88	6,38	7,99	5,35	6,65	1,10	16,48

TABLA 5.- CIPROFLOXACINO IV PLASMA.Concentraciones plasmáticas experimentales de Ciprofloxacino en función del tiempo (h), expresadas en mg/L, en cada oveja tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de Enrofloxacino, obtenido como metabolito, junto con los parámetros estadísticos asociados.

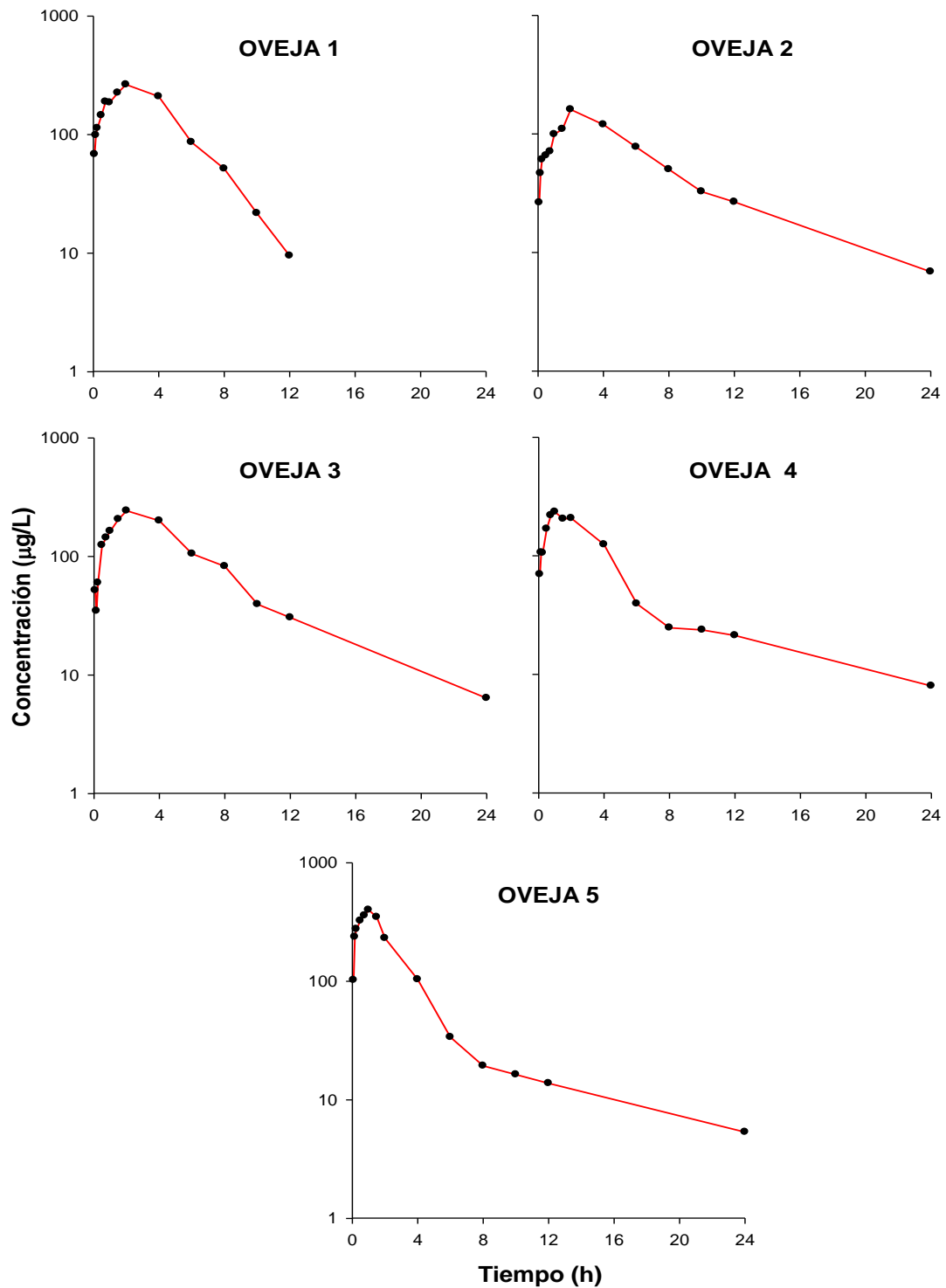


Gráfico 3. CIPROFLOXACINO IV PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de Ciprofloxacin obtenido como metabolito tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de Enrofloxacin a cada oveja.

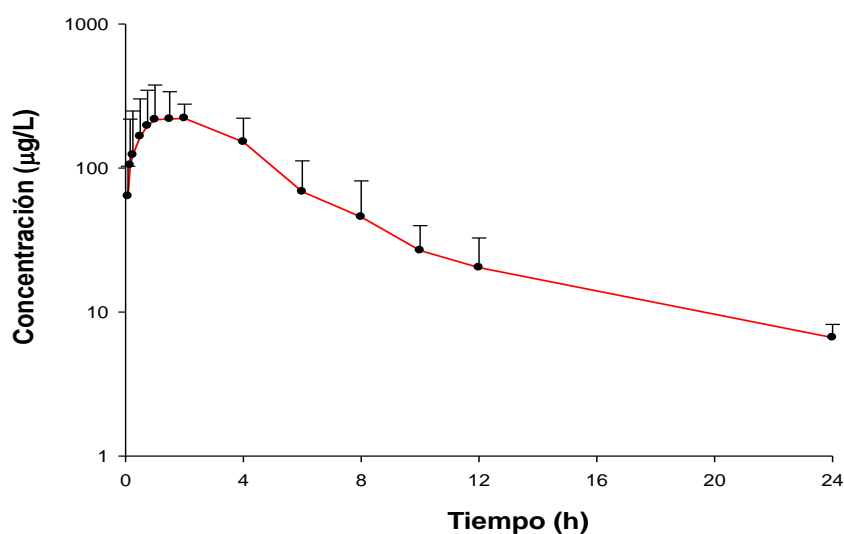


Gráfico 4.-CIPROFLOXACINO IV PLASMA.Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino obtenidas en ovejas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de ciprofloxacino no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 6). Una vez comprobada la no existencia de diferencias significativas entre animales, la única fuente de variación será el tiempo, por lo que se manifiesta homogeneidad a un tiempo determinado en las concentraciones.

Concentraciones en plasma para Ciprofloxacino 5mg/Kg IV de Enrofloxacino

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

TABLA 6.- CIPROFLOXACINO IV PLASMA.Test estadístico de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino tras la administración intravenosa de una dosis de 5mg/kg de enrofloxacino a ovejas.

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

Se ha procedido a un ajuste mediante modelos no compartimentales. Los resultados obtenidos tras dicho análisis se muestran en la tabla nº 7, para cada oveja, junto con los parámetros estadísticos asociados.

Parámetros	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
AUC₀₋₂₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$)		1097,08	1604,98	1162,92	1291,30	1289,07	225,52	17,49
AUC_{0-∞} ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$)	1372,24	1156,03	1652,66	1268,23	1358,44	1361,52	184,27	13,53
MRT (h)	3,92	7,87	6,53	7,98	5,48	6,36	1,71	26,83
$\lambda_z(1/\text{h})$	0,40	0,12	0,13	0,08	0,08	0,11	0,14	121,68
$t_{1/2\lambda_z}(\text{h})$	1,72	5,94	5,18	9,14	8,70	6,83	-	-
Tmax (h)	2,00	2,00	2,00	1,00	1,00	1,60	0,55	34,23
Cmax ($\mu\text{g}/\text{L}$)	264,24	160,45	243,19	234,54	399,29	260,34	86,98	33,41

TABLA 7.-CIPROFLOXACINO IV PLASMA. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para el ciprofloxacino para cada oveja tras el administración intravenosa de enrofloxacin a dosis de 5 mg/kg, junto con los parámetros estadísticos asociados.

4.3.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO.

La tabla 5 muestra los valores de concentración plasmática de enrofloxacin obtenidos tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de peso, junto con sus valores medios y estadísticos asociados. Se observa en las cinco ovejas cómo, a partir del primer tiempo de extracción, la concentración del fármaco va aumentando hasta aproximadamente las 2 – 4 horas, y posteriormente va descendiendo paulatinamente, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 60 horas tras la administración. Este hecho se puede corroborar observando los Gráficos 3 y 4, para las representaciones individuales y promediadas en escala semilogarítmica.

Tiempo(h)	Concentración plasmática para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
0,08	142,45	134,49	138,62	100,54	281,72	159,56	70,29	44,05
0,17	866,95	566,55	491,19	371,15	416,13	542,39	196,09	36,15
0,25	1249,45	941,87	828,46	483,96	716,22	843,99	282,92	33,52
0,50	1719,86	1650,51	1502,68	968,18	1355,85	1439,42	298,44	20,73
0,75	2653,43	1958,12	1648,24	1339,49	1819,77	1883,81	488,29	25,92
1,00	3240,33	2540,07	2329,44	1794,24	2118,65	2404,55	542,39	22,56
1,50	4332,45	3321,15	2997,33	2136,48	2674,81	3092,44	819,64	26,50
2,00	4336,16	3627,21	3421,28	2507,52	3450,80	3468,59	652,69	18,82
4,00	3936,20	5076,73	3977,57	2879,72	3237,53	3821,55	842,77	22,05
6,00	2723,46	3731,33	2989,61	2268,54	1539,22	2650,43	816,91	30,82
8,00	1510,72	2386,65	1859,25	1763,34	1120,48	1728,09	465,99	26,97
10,00	925,56	1811,03	1229,35	1534,24	590,17	1218,07	482,57	39,62
12,00	532,66	1354,54	847,19	1076,03	409,34	843,95	387,41	45,90
24,00	138,11	95,34	87,36	99,08	37,81	91,54	35,86	39,17
32,00	77,38	63,61	60,43	50,35	24,53	55,26	19,71	35,67
48,00	30,76	17,38	32,05	12,90	12,11	21,04	9,68	46,03
60,00	7,04	5,86	5,71	-	-	6,20	0,73	11,75

TABLA 8- ENROFLOXACINO SC PLASMA. Concentraciones plasmáticas experimentales de enrofloxacino en función del tiempo (h), expresadas en mg/L, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg junto con los parámetros estadísticos asociados.

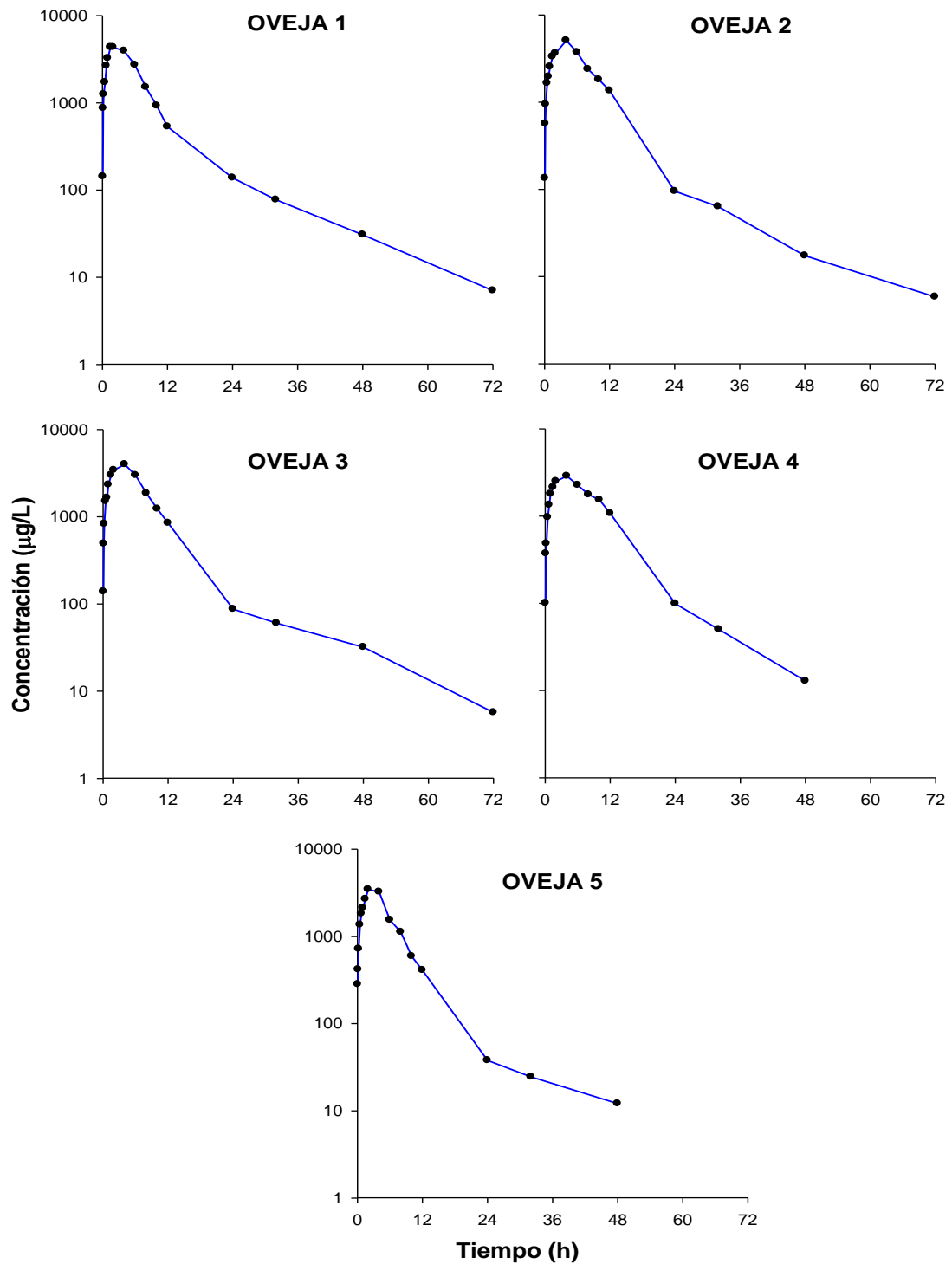


Gráfico 5.-ENROFLOXACINO SC PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de enrofloxacin obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg a cada oveja.

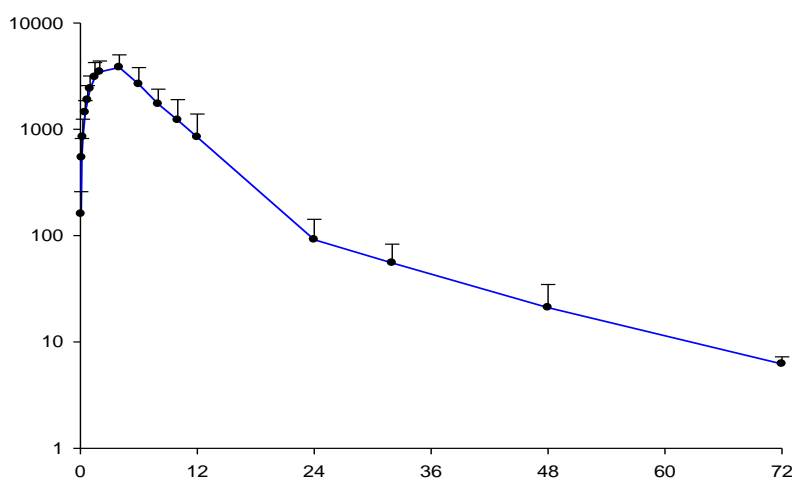


Gráfico 6.-ENROFLOXACINO SC PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacin obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg a ovejas.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, y al igual que en la administración intravenosa, se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de marbofloxacin no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 9).

Concentraciones en plasma para enrofloxacin 5mg/Kg vía subcutánea

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

TABLA 9.- ENROFLOXACINO SC PLASMA. Test estadísticos de Kolmogorov-Smirnov y de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino tras la administración subcutánea de una dosis de 5mg/kg a ovejas.

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

Las concentraciones experimentales medidas en cada animal se han ajustado a modelos compartimentales, obteniendo mejores resultados utilizando un modelo bicompartimental con concentraciones ponderadas a su inverso al cuadrado, con valores más bajos del parámetro AIC.

Los parámetros correspondientes a dicho ajuste para cada animal se presentan en la tabla 10 junto con los valores medios, y sus estadísticos de desviación. Mientras que, los parámetros correspondientes al análisis no compartimental, para cada animal, como para los valores medios y estadísticos asociados, se presentan en la tabla 11.

Parámetros	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
$C_{m\acute{a}x}(\mu\text{g/L})$	4336	5076	3977	2879	3450	3944	838	21,27
$T_{m\acute{a}x}(h)$	2,00	4,00	4,00	4,00	2,00	3,20	1,10	34,23
$C_1(\mu\text{g/L})$	34750	47810	41172	32028	73758	45903	16724	36,43
$C_z(\mu\text{g/L})$	530,47	229,01	317,90	243,07	89,80	282,05	161,47	57,25
$C_a(\mu\text{g/L})$	35281	48039	41490	32271	73847	46186	16607	35,96
$\lambda_1(1/h)$	0,36	0,26	0,30	0,25	0,38	0,31	0,06	18,71
$\lambda_z(1/h)$	0,06	0,05	0,06	0,09	0,05	0,06	0,01	14,40
$k_a(1/h)$	0,50	0,34	0,37	0,31	0,42	0,39	0,07	18,81
$t_{\frac{1}{2}\lambda_1}(h)^*$	1,92	2,62	2,33	2,80	1,83	2,24	-	-
$t_{\frac{1}{2}\lambda_z}(h)^*$	11,67	13,48	13,04	11,38	16,66	13,00	-	-
$t_{\frac{1}{2}\lambda_a}(h)^*$	1,40	2,06	1,86	2,22	1,64	1,79	-	-

TABLA 10.- ENROFLOXACINO SC PLASMA. Parámetros farmacocinéticos bicompartimentales deducidos tras la administración subcutánea de enrofloxacin, a dosis de 5 mg/kg, a cada una de las ovejas a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste junto con sus valores medios y estadísticos asociados.

*: Media armónica para los valores de las semividas en las fases de ingreso y de disposición rápida y lenta.

Parámetros	Animales sometidos a estudio (ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
$AUC_{0-24}(\mu\text{g}\times\text{h/L})$	32137	41108	32396	28378	22372	31278	6825	21,82
$AUC_{0-\infty}(\mu\text{g}\times\text{h/L})$	34285	42679	34153	29545	23164	32765	7160	21,85
$MRT(h)$	8,02	8,06	8,25	8,50	6,78	7,92	0,67	8,40

MAT (h)	4,88	2,20	3,48	2,08	-0,09	3,16	1,31	41,51
F (%)	136,57	122,84	91,28	96,50	76,44	104,72	24,45	23,34

TABLA 11.-ENROFLOXACINO SC PLASMA Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada oveja tras la administración subcutánea de enrofloxacin a dosis de 5 mg/kg junto con sus valores medios y estadísticos asociados.

4.4. CIPROFLOXACINO TRAS LA ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO

A continuación se muestran las concentraciones de Ciprofloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de Enrofloxacin de 5mg/kg a cinco ovejas.

Tiempo(h)	Concentración plasmática para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
0,08	-	-	-	-	-	-	-	-
0,17	-	-	-	-	-	-	-	-
0,25	12,20	5,48	7,26	-	5,87	7,70	3,09	40,16
0,50	23,50	22,72	23,21	20,87	35,70	25,20	5,96	23,65
0,75	65,43	36,99	49,87	44,16	66,32	52,55	12,99	24,72
1,00	94,78	57,53	77,02	76,31	89,94	79,12	14,50	18,32
1,50	149,09	92,65	122,64	125,45	126,69	123,30	20,13	16,33
2,00	154,70	114,91	134,72	174,50	184,89	152,75	28,58	18,71
4,00	219,91	180,36	198,27	190,13	221,00	201,93	18,06	8,94
6,00	175,15	149,83	188,17	246,03	156,22	183,08	38,34	20,94
8,00	130,40	119,30	125,95	214,65	124,05	142,87	40,32	28,22
10,00	85,23	103,25	110,47	152,58	64,79	103,26	32,75	31,71
12,00	40,06	82,92	83,92	135,88	49,37	78,43	37,64	47,99
24,00	18,09	8,76	14,85	29,31	14,01	17,00	7,65	44,99
32,00	9,38	4,37	9,07	13,38	7,32	8,70	3,28	37,73
48,00	5,27	-	5,10	5,21	-	5,19	0,09	1,72

TABLA 12- CIPROFLOXACINO SC PLASMA Concentraciones plasmáticas experimentales de Ciprofloxacino en función del tiempo (h), expresadas en mg/L, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de Enrofloxacin junto con los parámetros estadísticos asociados.

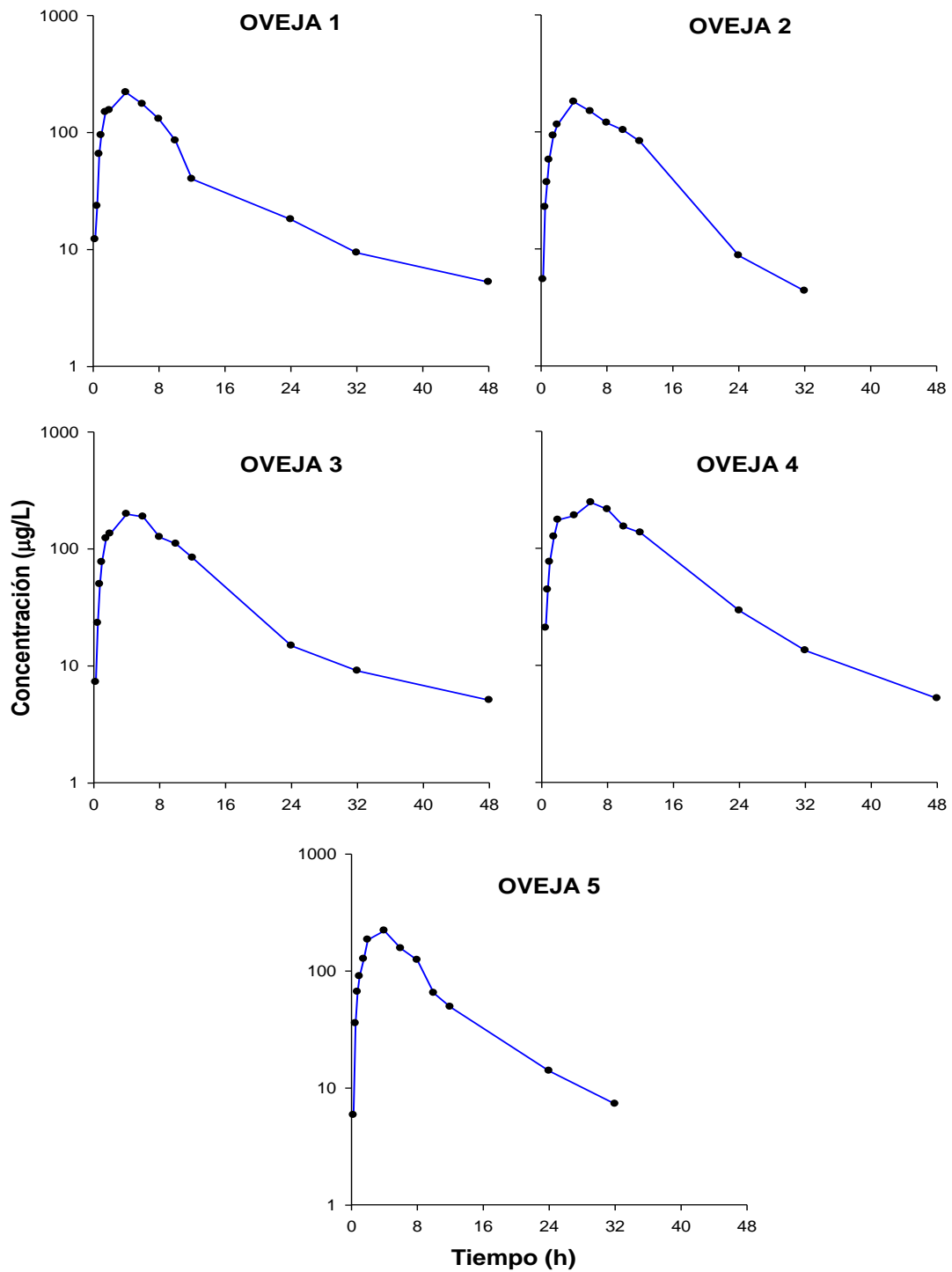


Gráfico.7.CIPROFLOXACINO SC PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de Ciprofloxacin obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de Enrofloxacin a cada oveja.

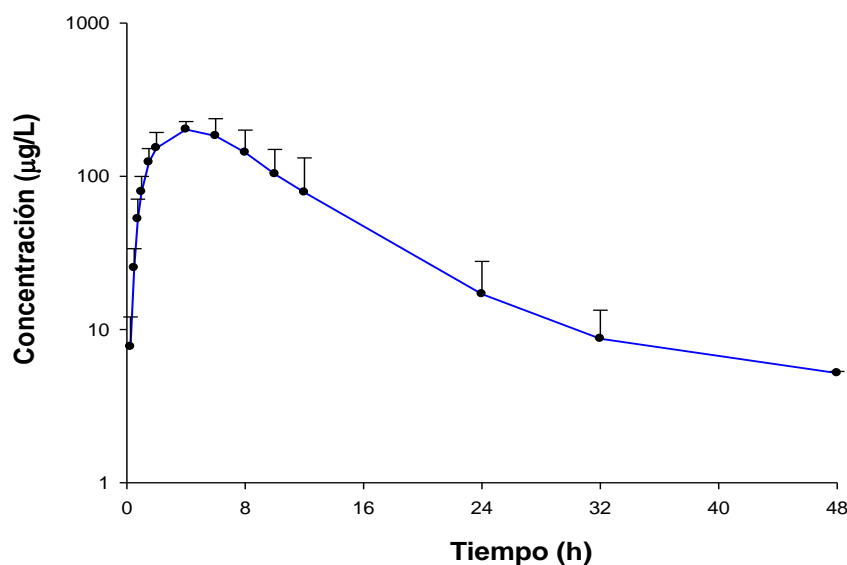


Gráfico .8.-CIPROFLOXACINO SC PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de Ciprofloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg a ovejas.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, y al igual que en la administración intravenosa, se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de ciprofloxacino no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 13).

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

TABLA 13- CIPROFLOXACINO SC PLASMA. Test estadísticos de Kolmogorov-Smirnov y de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de Ciprofloxacino tras la administración subcutánea de una dosis de 5mg/kg de Enrofloxacino a ovejas.

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

Las concentraciones medidas en cada animal de Ciprofloxacino, obtenido como metabolito de Enrofloxacino, se han ajustado mediante análisis no compartimental y los parámetros obtenidos se muestran en la Tabla nº14:

Parámetros	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
AUC₀₋₂₄ (µg·h/L)	1909,08	1808,93	2081,12	2900,18	1861,48	2112,16	452,21	21,41
AUC_{0-∞} (µg·h/L)	2246,84	1907,24	2412,01	3283,61	2028,52	2375,64	543,65	22,88
MRT (h)	13,38	9,64	13,91	12,81	9,74	11,90	2,05	17,26
λz(1/h)	0,04	0,09	0,04	0,06	0,09	0,07	0,02	35,82
t_{1/2λz}(h)	15,47	7,58	17,23	10,95	8,01	10,62	-	-
Tmax (h)	4,00	4,00	4,00	6,00	4,00	4,40	0,89	20,33
Cmax (µg/L)	219,91	180,36	198,27	246,03	221,00	213,11	24,92	11,70

TABLA 14.- CIPROFLOXACINO SC PLASMA Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ciprofloxacino obtenidos para cada oveja tras la administración subcutánea de enrofloxacino a dosis de 5 mg/kg junto con sus valores medios y estadísticos asociados.

4.5.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% (SC1).

Tiempo	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
0,08	20,72	46,76	17,43	39,20	71,95	39,21	22,05	56,24
0,17	101,37	172,67	147,69	150,85	181,70	150,86	31,17	20,66
0,25	210,49	298,58	336,18	311,21	399,60	311,21	68,45	21,99
0,50	499,47	598,95	562,06	620,73	808,10	617,86	115,86	18,75
0,75	792,64	722,35	694,70	835,46	1132,24	835,48	175,01	20,95
1,00	932,08	1107,93	928,65	1102,98	1443,30	1102,99	209,43	18,99
1,50	1138,78	1382,66	1739,85	1568,55	2012,91	1568,55	333,94	21,29
2,00	1345,49	2552,67	2325,34	2508,60	2552,80	2256,98	518,11	22,96
4,00	2690,98	3105,72	2375,92	3206,37	3933,92	3062,58	589,78	19,26
6,00	3045,52	3838,51	2652,72	3610,57	3785,85	3386,63	516,89	15,26
8,00	3396,46	4746,78	2625,73	3431,22	3088,90	3457,82	789,68	22,84
10,00	3038,11	5744,78	2994,00	3290,56	2904,80	3594,45	1210,57	33,68
12,00	3099,35	4816,01	3141,49	3196,72	1730,06	3196,73	1093,82	34,22
24,00	1458,43	1866,53	1300,36	1295,16	555,31	1295,16	474,48	36,63
32,00	380,86	689,58	187,72	278,57	255,44	358,43	197,67	55,15
48,00	249,99	255,32	98,30	112,62	114,77	166,20	79,20	47,65
72,00	125,55	124,52	79,28	59,73	62,55	90,33	32,56	36,04

96,00	65,51	57,50	35,59	21,60	40,62	44,16	17,52	39,68
--------------	-------	-------	-------	-------	-------	--------------	-------	-------

TABLA 15- ENROFLOXACINO SC1 PLASMA. Concentraciones plasmática experimentales de enrofloxacin, expresadas en µg/L, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% junto con sus valores medios y estadísticos de desviación.

Las representaciones gráficas semilogarítmicas de las concentraciones plasmáticas para cada animal, junto con los valores medios (media ± SD), tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% se muestran en los Gráficos 9 y 10, a los distintos tiempos de extracción.

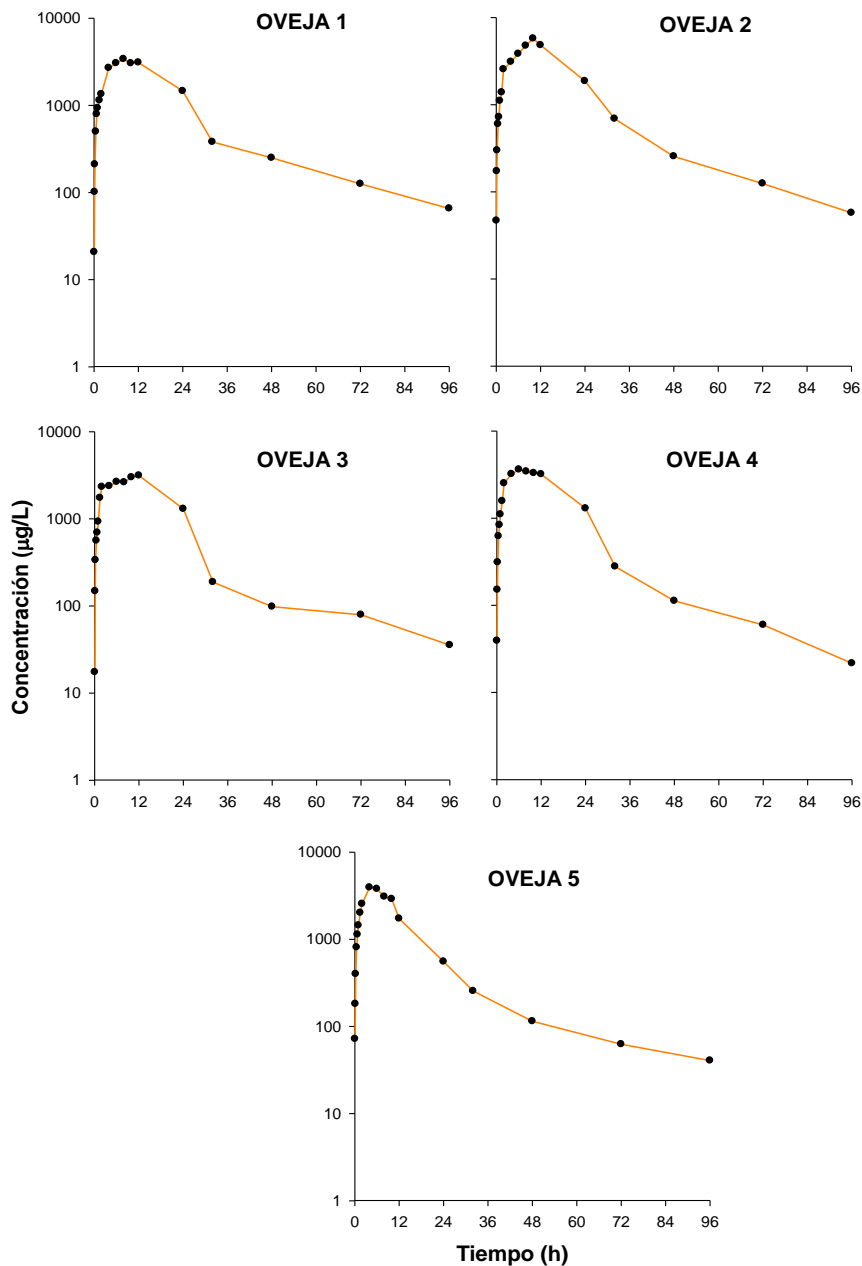


Gráfico .9.-ENROFLOXACINO SC1 PLASMA. Representación gráfica de las concentraciones experimentales semilogarítmicas de enrofloxacin obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% a cada oveja.

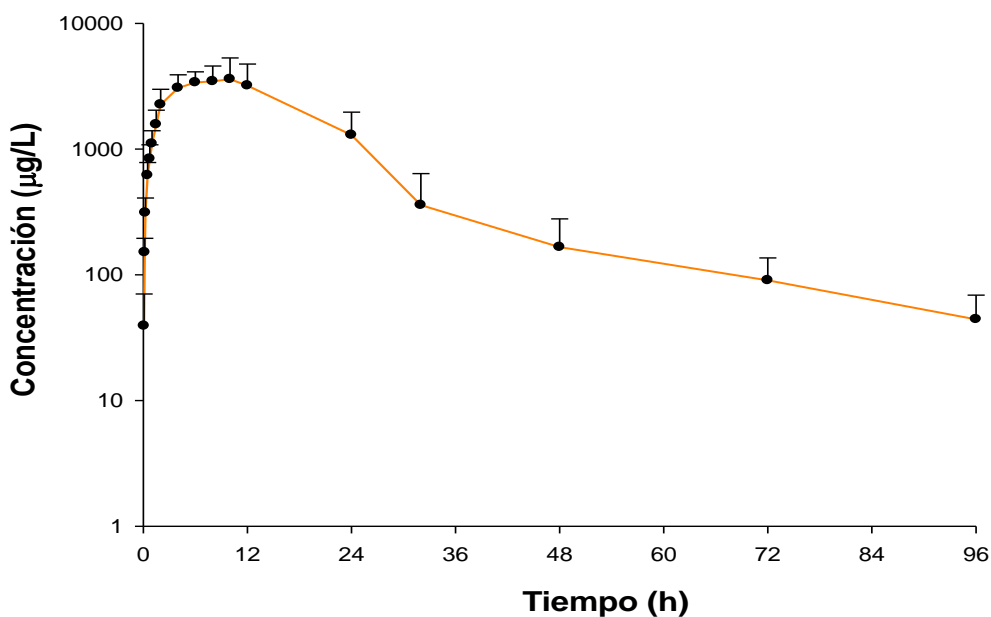


Gráfico 10.-ENROFLOXACINO SC1 PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de Enrofloxacinó obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% a ovejas.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, y al igual que en la administración intravenosa, se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de enrofloxacinó no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 16).

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

TABLA 16.- ENROFLOXACINO SC1 PLASMA. Test estadísticos de Kolmogorov-Smirnov y de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de enrofloxacinó en solución del polímero P407 al 25%, administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg a ovejas. * Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

Al igual que en las administraciones anteriores, se han ajustado las concentraciones plasmáticas obtenidas a modelos compartimentales, con y sin ponderación. Los resultados de dichos ajustes muestran un menor valor de AIC para el modelo bicompartimental con ponderación en todos los animales.

Los parámetros correspondientes al ajuste bicompartimental, para cada uno de los animales y para sus valores medios y estadísticos asociados, se muestran en la Tabla 17, mientras que los parámetros no compartimentales se muestran en la tabla 18.

Parámetros	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
$C_{m\acute{a}x}(\mu\text{g/L})$	3396,46	5744,78	3141,49	3610,57	3933,92	3965,44	1036,29	26,13
$T_{m\acute{a}x}(h)$	8,00	10,00	12,00	6,00	4,00	8,00	3,16	39,53
$C_1(\mu\text{g/L})$	16948,20	39459,63	14311,46	32793,86	60236,32	32749,89	18642,66	56,92
$C_z(\mu\text{g/L})$	263,60	342,26	316,75	290,70	241,31	290,92	40,34	13,87
$C_a(\mu\text{g/L})$	17211,80	39801,89	14628,20	33084,56	60477,63	33040,82	18628,44	56,38
$\lambda_1(1/h)$	0,10	0,11	0,11	0,13	0,17	0,12	0,03	24,35
$\lambda_z(1/h)$	0,01	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,00	22,77
$k_a(1/h)$	0,16	0,14	0,18	0,17	0,20	0,17	0,02	13,63
$t_{\frac{1}{2}\lambda_1}(h)^*$	6,92	6,42	6,49	5,31	3,99	5,60	-	-
$t_{\frac{1}{2}\lambda_z}(h)^*$	48,81	38,19	30,52	26,68	37,37	34,80	-	-
$t_{\frac{1}{2}\lambda_a}(h)^*$	4,45	4,95	3,88	4,12	3,45	4,11	-	-

TABLA 17.-ENROFLOXACINO SC1 PLASMA. Parámetros farmacocinéticos bicompartimentales deducidos tras la administración subcutánea de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25%, a dosis de 15 mg/kg, a cada una de las ovejas a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste junto con sus valores medios y estadísticos de desviación. *: Media armónica de los valores calculados para las semividas en las fases de ingreso y de disposición rápida y lenta.

Parámetros	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
AUC₂₄ ($\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$)	56525	81697	53995	60293	46746	59851	13177	22,02
AUC_∞ ($\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$)	77996	110514	65691	71983	57783	76794	20288	26,42
MRT (h)	23,68	25,15	19,34	16,47	19,09	20,74	3,57	17,21
MAT (h)	20,54	19,29	14,57	10,05	12,22	15,33	4,50	29,34
F (%)	103,56	106,03	58,53	78,37	63,56	82,01	22,06	26,90

TABLA 18.- ENROFLOXACINO SC1 PLASMA. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada oveja tras la administración subcutánea de Enrofloxacinó en solución del polímero P407 al 25% a una dosis de 15 mg/kg ajuste junto con sus valores medios y estadísticos de desviación.

4.6.- CIPROFLOXACINO TRAS LA ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% (SC1)

A continuación se muestran las concentraciones obtenidas del metabolito ciprofloxacino tras la administración de una dosis de 15mg/kg por vía subcutánea de enrofloxacinó en la solución del polímero P407 al 25%.

Tiempo	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
0,08	-	-	-	-	-	-	-	-
0,17	-	-	-	-	-	-	-	-
0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
0,50	5,80	12,49	22,12	7,99	6,81	11,04	6,70	60,67
0,75	9,79	17,71	35,00	14,91	14,04	18,29	9,77	53,39
1,00	24,83	33,26	63,01	36,50	28,90	37,30	15,03	40,30
1,50	68,89	42,88	158,69	137,78	108,07	103,26	47,73	46,23
2,00	98,63	164,58	179,31	197,27	145,53	157,06	37,80	24,07
4,00	139,06	286,28	318,80	278,13	213,94	247,24	71,43	28,89
6,00	242,40	321,82	392,35	484,80	318,53	351,98	91,25	25,93
8,00	202,58	275,39	307,81	405,16	293,17	296,82	72,82	24,53
10,00	156,56	205,00	354,52	313,11	233,62	252,56	80,47	31,86
12,00	163,22	204,37	346,64	326,45	216,11	251,36	80,52	32,03
24,00	113,92	81,14	157,92	69,51	94,76	103,45	34,65	33,49
32,00	58,46	53,62	56,99	17,38	32,66	43,82	18,08	41,25
48,00	5,04	29,47	11,16	-	17,13	15,70	10,42	66,38

TABLA 19.- CIPROFLOXACINO SC1 PLASMA. Concentraciones plasmática experimentales de Ciprofloxacino, expresadas en $\mu\text{g/L}$, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% de enrofloxacin junto con sus estadísticos asociados.

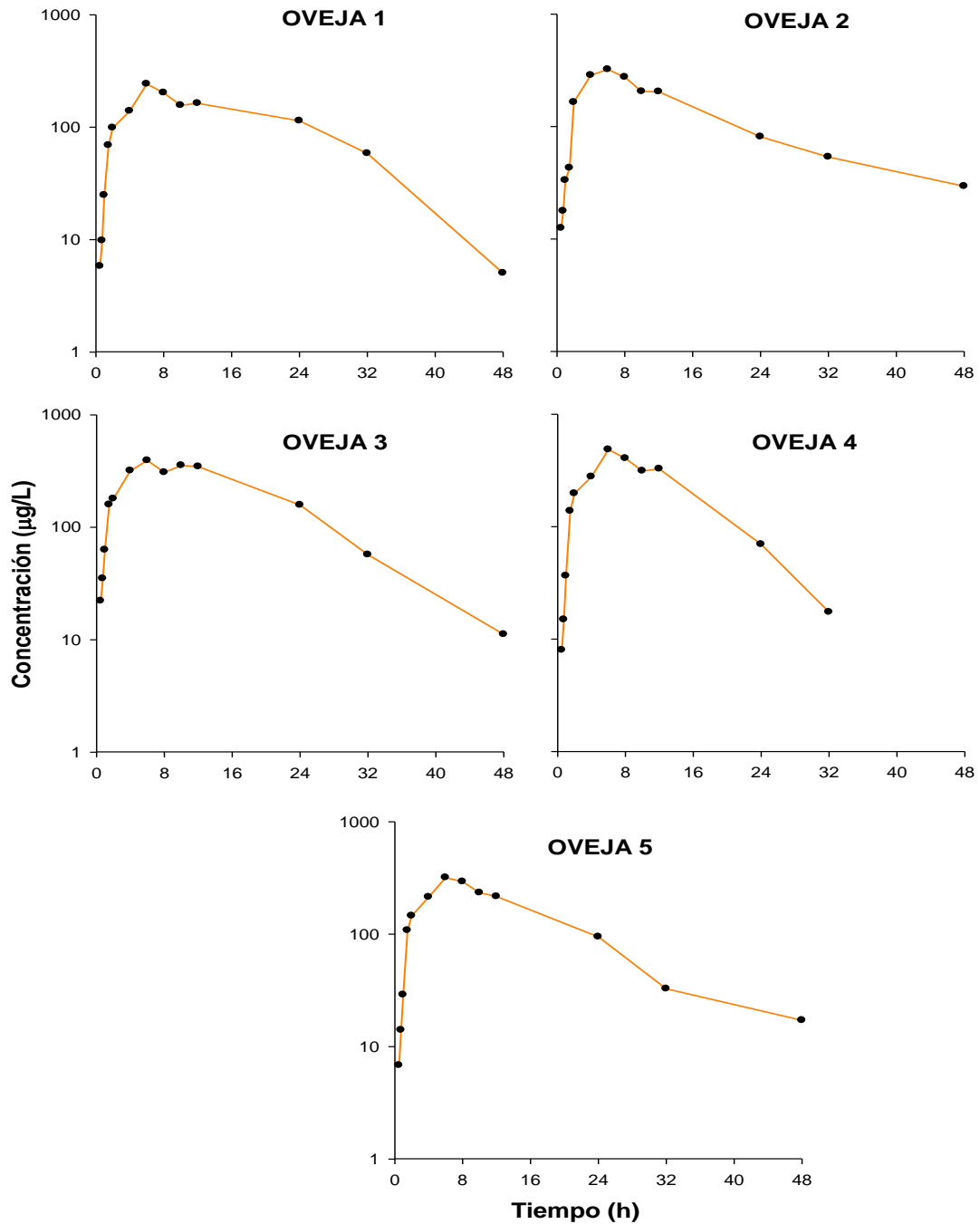


Gráfico 11-CIPROFLOXACINO SC1 PLASMA. Representación gráfica de las concentraciones experimentales semilogarítmicas de ciprofloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% de enrofloxacin a cada oveja.

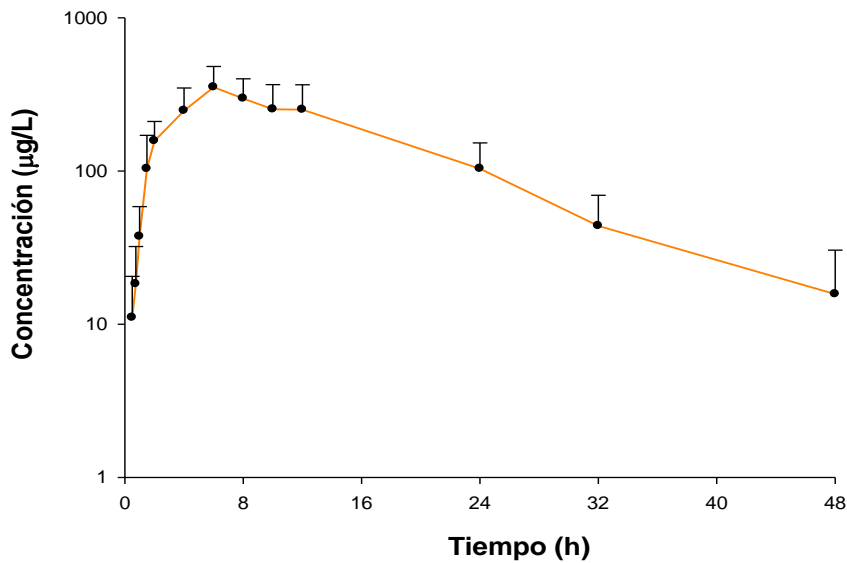


Gráfico 12.-CIPROFLOXACINO SC1 PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% de enrofloxacin a ovejas.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, y al igual que en la administración intravenosa, se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de Enrofloxacin no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 20).

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

TABLA 20.- CIPROFLOXACINO SC1 PLASMA. Test estadísticos de Kolmogorov-Smirnov y de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino en solución del polímero P407 al 25%, administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino a ovejas.

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

Las concentraciones obtenidas experimentalmente de ciprofloxacino, tras la administración de una solución del polímero de P407 al 25% de concentración de enrofloxacino de 15mg/Kg para cada animal, obtenido como metabolito del anterior, se han ajustado mediante análisis no compartimental de los datos y los parámetros obtenidos se muestran en la Tabla N°21:

Parámetros	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
AUC₀₋₂₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)	3458,07	4226,25	6314,81	5611,73	4350,94	4792,36	1149,44	23,98
AUC_{0-∞} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)	4510,49	6090,06	7665,07	6022,45	5542,39	5966,09	1140,54	19,12
MRT (h)	16,65	22,09	15,48	11,73	17,97	16,78	3,77	22,46
$\lambda_z(1/h)$	0,13	0,04	0,10	0,16	0,05	0,10	0,05	52,14
$t_{1/2\lambda_z}(h)$	5,31	16,34	6,73	4,36	13,96	7,15	-	-
Tmax (h)	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	0,00	0,00
Cmax ($\mu\text{g/L}$)	242,40	321,82	392,35	484,80	318,53	351,98	91,25	25,93

TABLA 21.- CIPROFLOXACINO SC1 PLASMA. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ciprofloxacino obtenidos para cada oveja tras la administración subcutánea de enrofloxacino a dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% junto con sus valores medios y estadísticos asociados.

4.7.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2% (SC2).

La Tabla 22 muestra los valores de concentración plasmática de enrofloxacino obtenidos tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de peso en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% junto con los estadísticos de desviación. En los cinco

animales, a partir del primer tiempo de extracción, la concentración del fármaco va aumentando hasta aproximadamente las 2-6 horas, y posteriormente va descendiendo de manera gradual, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 48 horas.

Tiempo	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
0,08	20,72	46,76	17,43	39,20	71,95	39,21	22,05	56,24
0,17	101,37	172,67	147,69	150,85	181,70	150,86	31,17	20,66
0,25	210,49	298,58	336,18	311,21	399,60	311,21	68,45	21,99
0,50	499,47	598,95	562,06	620,73	808,10	617,86	115,86	18,75
0,75	792,64	722,35	694,70	835,46	1132,24	835,48	175,01	20,95
1,00	932,08	1107,93	928,65	1102,98	1443,30	1102,99	209,43	18,99
1,50	1138,78	1382,66	1739,85	1568,55	2012,91	1568,55	333,94	21,29
2,00	1345,49	2552,67	2325,34	2508,60	2552,80	2256,98	518,11	22,96
4,00	2690,98	3105,72	2375,92	3206,37	3933,92	3062,58	589,78	19,26
6,00	3045,52	3838,51	2652,72	3610,57	3785,85	3386,63	516,89	15,26
8,00	3396,46	4746,78	2625,73	3431,22	3088,90	3457,82	789,68	22,84
10,00	3038,11	5744,78	2994,00	3290,56	2904,80	3594,45	1210,57	33,68
12,00	3099,35	4816,01	3141,49	3196,72	1730,06	3196,73	109,82	34,22
24,00	1458,43	1866,53	1300,36	1295,16	555,31	1295,16	474,48	36,63
32,00	380,86	689,58	187,72	278,57	255,44	358,43	197,67	55,15
48,00	249,99	255,32	98,30	112,62	114,77	166,20	79,20	47,65
72,00	125,55	124,52	79,28	59,73	62,55	90,33	32,56	36,04
96,00	65,51	57,50	35,59	21,60	40,62	44,16	17,52	39,68

TABLA 22.- ENROFLOXACINO SC2 PLASMA. Concentraciones plasmática experimentales de enrofloxacin, expresadas en µg/L, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% junto con sus estadísticos asociados.

Las representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas obtenidas en cada animal tras su administración subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, junto con los valores medios de las concentraciones plasmáticas

(media \pm SD), a los distintos tiempos de extracción, se muestran en los Gráficos 13 y 14 respectivamente.

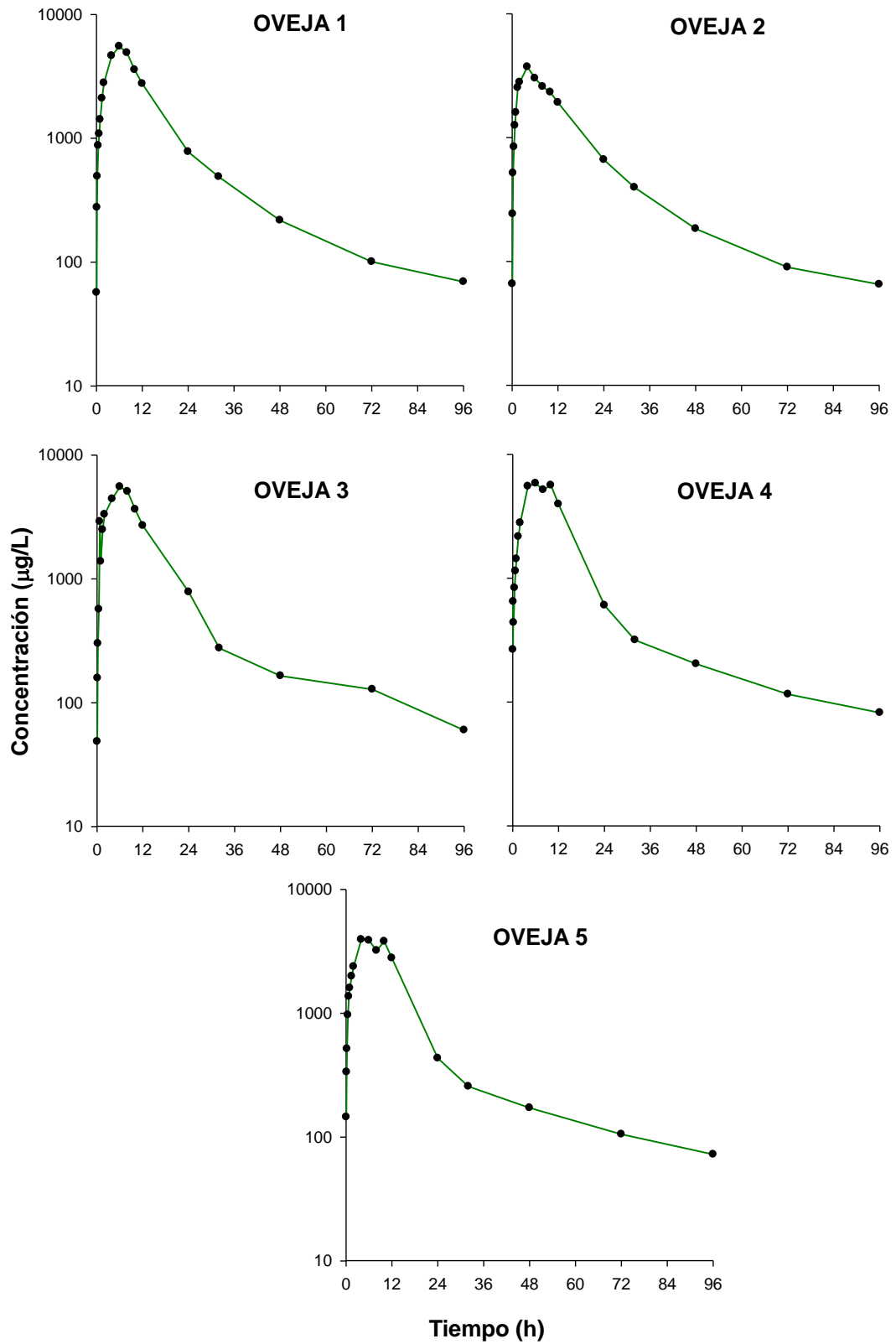


Gráfico 13-ENROFLOXACINO SC2 PLASMA. Representación gráfica de las concentraciones experimentales semilogarítmicas de enrofloxacin obtenidas tras la administración subcutánea

de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%. a cada oveja.

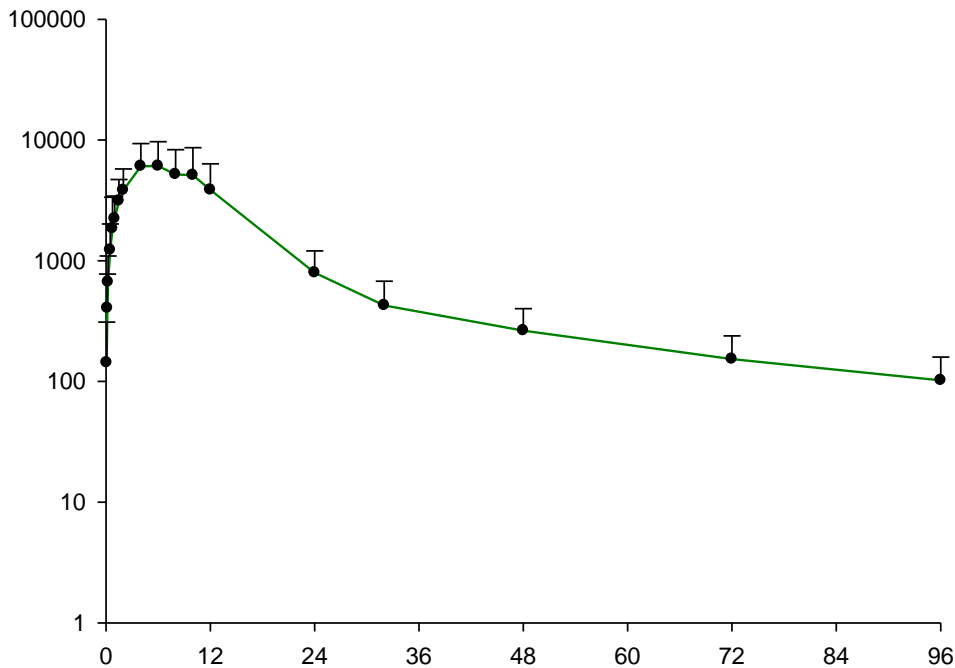


Gráfico 14.-ENROFLOXACINO SC2 PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de Enrofloxacin obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% a ovejas.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, y al igual que en las administraciones intravenosa y subcutáneas anteriores, se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de enrofloxacin no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 14).

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

TABLA 23- ENROFLOXACINO SC2 PLASMA. Test estadísticos de Kolmogorov-Smirnov y de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de Enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg a ovejas.

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

Al igual que en anteriores situaciones, se han ajustado los datos experimentales a modelos compartimentales, con diferente ponderación. Se han obtenido los mejores resultados con ponderaciones de concentración al inverso al cuadrado, ajustándose los datos a un modelo bicompartimental (menores valores de AIC). A su vez, los parámetros correspondientes al ajuste, para cada animal, valores medios y estadísticos asociados se presentan en la Tabla 24, mientras que los parámetros correspondientes al análisis no compartimental se muestran en la tabla 25.

Parámetros	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
$C_{m\acute{a}x}(\mu\text{g/L})$	5522,73	3726,89	5547,71	5830,57	3933,35	4912,25	997,89	20,31
$T_{m\acute{a}x}(h)$	6,00	4,00	6,00	6,00	4,00	5,20	1,10	21,07
$C_1(\mu\text{g/L})$	44571,03	8530,42	13688,74	34944,95	58029,17	31952,86	20798,64	65,09
$C_2(\mu\text{g/L})$	382,78	522,13	469,60	334,25	274,34	396,62	100,14	25,25
$C_a(\mu\text{g/L})$	44953,81	9052,54	14158,34	35279,20	58303,50	32349,48	20704,64	64,00
$\lambda_1(1/h)$	0,15	0,13	0,12	0,15	0,19	0,15	0,02	15,75
$\lambda_z(1/h)$	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,00	22,04
$k_a(1/h)$	0,19	0,34	0,29	0,23	0,22	0,25	0,06	24,06
$t_{\frac{1}{2}\lambda_1}(h)^*$	4,69	5,25	5,55	4,49	3,74	4,66	-	-
$t_{\frac{1}{2}\lambda_z}(h)^*$	38,86	30,44	33,23	47,05	51,57	38,66	-	-
$t_{\frac{1}{2}\lambda_a}(h)^*$	3,71	2,04	2,39	3,00	3,15	2,73	-	-

TABLA 24.-ENROFLOXACINO SC2 PLASMA. Parámetros farmacocinéticos bicompartimentales deducidos tras la administración subcutánea de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, a dosis de 15 mg/kg, a cada una de las ovejas a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste junto con sus valores medios y estadísticos de desviación. *: Media armónica de los valores calculados para las semividas en las fases de ingreso y de disposición rápida y lenta.

Parámetros	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
AUC₀₋₂₄ ($\mu\text{g}\times\text{h/L}$)	64361,99	45312,43	65313,79	75335,22	52840,25	60632,73	11698,48	19,29
AUC_{0-\infty} ($\mu\text{g}\times\text{h/L}$)	83816,31	62460,93	80842,65	93437,67	68266,96	77764,91	12411,19	15,96
MRT (h)	22,00	25,55	19,67	21,86	24,46	22,71	2,32	10,24
MAT (h)	18,86	19,70	14,90	15,44	17,60	17,30	2,09	12,08
F (%)	111,29	59,92	72,03	101,73	75,09	84,01	21,57	25,68

TABLA 25.-ENROFLOXACINO SC2 PLASMA. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales deducidos tras la administración subcutánea de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, a dosis de 15 mg/kg, a cada una de las cabras junto con sus valores medios y estadísticos de desviación.

4.8.- CIPROFLOXACINO TRAS LA ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2%.

Las concentraciones obtenidas de ciprofloxacino, tras la metabolización del enrofloxacin administrado a cinco ovejas por vía subcutánea, en solución del polímero P407 al 25% más carboximetilcelulosa al 2% se detallan a continuación:

Tiempo	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
0,08	-	-	-	-	-	-	-	-
0,17	-	-	-	-	-	-	-	-
0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
0,50	7,96	7,6202	9,734	6,62	6,48	7,68	1,31	17,05
0,75	30,06	21,8498	36,4321	22,77	19,25	26,07	7,04	27,02
1,00	55,76	33,9957	74,8601	38,51	36,19	47,86	17,37	36,30
1,50	81,02	75,7128	95,6987	90,71	84,25	85,48	7,88	9,22
2,00	99,76	81,1725	134,2925	117,35	111,62	108,84	19,85	18,24
4,00	136,8	127,8443	211,5015	229,97	125,8315	166,39	50,21	30,18
6,00	177,62	104,2063	258,9663	242,66	126,8	182,05	68,41	37,58
8,00	121,57	96,3115	249,6122	215,59	77,233	152,06	76,14	50,07
10,00	96,21	68,2578	198,0487	230,24	58,12	130,18	78,74	60,49
12,00	64,12	51,7908	175,8423	164,09	27,8919	96,75	68,22	70,52
24,00	37,89	17,58	44,494	55,93	10,94	33,37	18,75	56,18
32,00	34,18	9,7116	30,9476	17,96	9,02	20,36	11,73	57,63
48,00	17,2707	6,02	13,8793	14,21	5,16	11,31	5,39	47,69
72,00	8,81	-	5,0717	8,39	-	7,42	2,05	27,58

TABLA 26.- CIPROFLOXACINO SC2 PLASMA. Concentraciones plasmática experimentales de ciprofloxacino, expresadas en $\mu\text{g/L}$, en cada oveja tras la administración subcutánea de una

dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% junto con sus estadísticos asociados.

Las representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas obtenidas en cada animal tras su administración subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, junto con los valores medios de las concentraciones plasmáticas (media \pm SD), a los distintos tiempos de extracción, se muestran en los Gráficos 15 y 16 respectivamente.

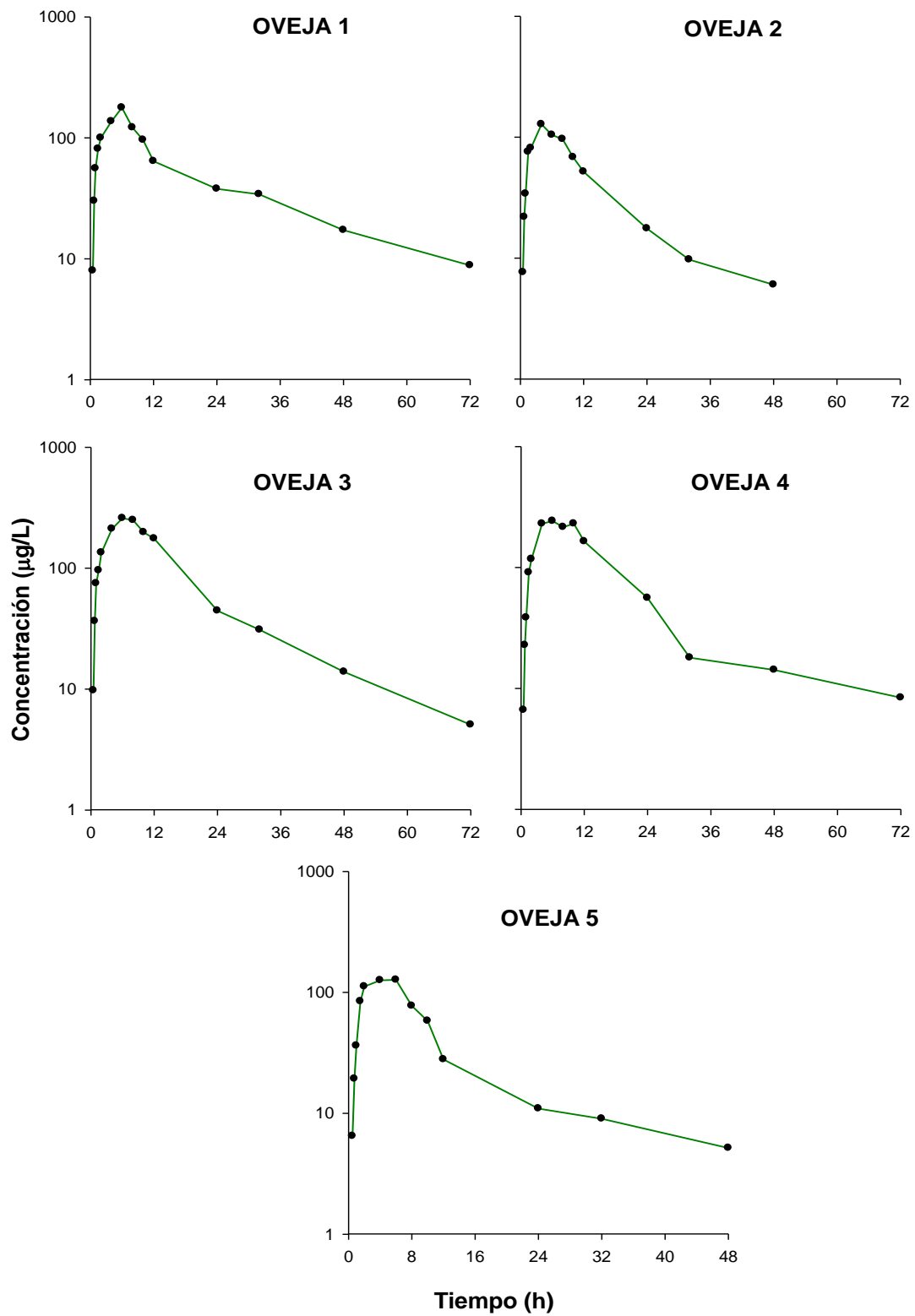


Gráfico 15 -CIPROFLOXACINO SC2 PLASMA. Representación gráfica de las concentraciones experimentales semilogarítmicas de Ciprofloxacin obtenidas tras la administración subcutánea

de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% de enrofloxacino a cada oveja.

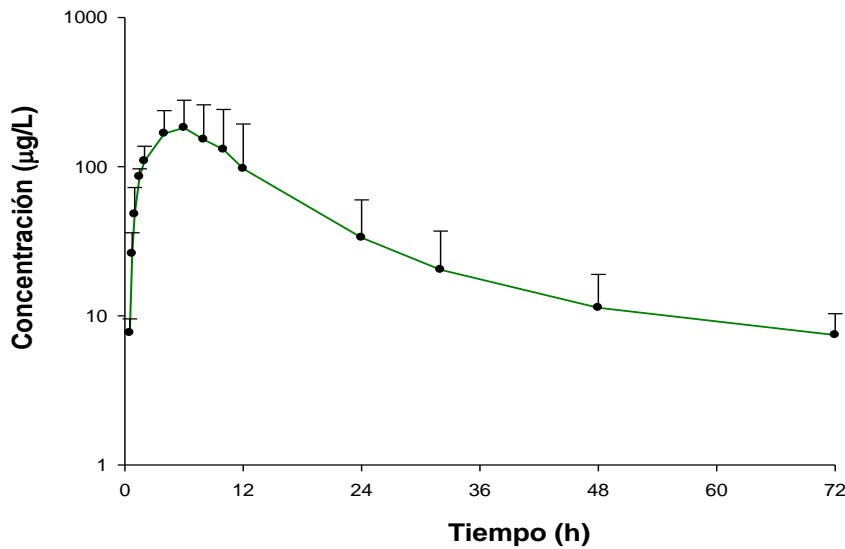


Gráfico 16.-CIPROFLOXACINO SC2 PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% de enrofloxacino a ovejas.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, y al igual que en las administraciones intravenosa y subcutáneas anteriores, se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de ciprofloxacino no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 27).

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

TABLA 27- CIPROFLOXACINO SC2 PLASMA. Test estadísticos de Kolmogorov-Smirnov y de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% de enrofloxacino tras administración subcutánea de

una dosis de 15 mg/kg a ovejas. * Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

Al igual que en anteriores situaciones, se han ajustado los datos experimentales obtenidos a modelos no compartimentales. Los parámetros correspondientes al ajuste, para cada animal, valores medios y estadísticos asociados se presentan en la Tabla 28.

Parámetros	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
AUC_{0-24} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)	1916,78	1382,11	3413,11	3417,30	1215,03	2268,87	1078,09	47,52
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)	3190,51	1776,38	4378,42	4589,74	1550,47	3097,10	1415,53	45,70
MRT (h)	28,22	18,43	18,09	24,81	17,38	21,39	4,85	22,67
λ_z (1/h)	0,03	0,04	0,04	0,02	0,04	0,03	0,01	23,94
$t_{1/2\lambda_z}$ (h)	22,64	18,96	15,89	31,70	19,51	20,61	-	-
T_{\max} (h)	6,00	4,00	6,00	6,00	6,00	5,60	0,89	15,97
C_{\max} ($\mu\text{g/L}$)	177,62	127,84	258,97	242,66	126,80	186,78	62,23	33,32

TABLA 28.-CIPROFLOXACINO SC2 PLASMA. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ciprofloxacino obtenidos para cada oveja tras la administración subcutánea de enrofloxacin a dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% junto con sus valores medios y estadísticos asociados.

4.9.- COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ENROFLOXACINO TRAS SU ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA, SUBCUTÁNEA, SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% (SC1) Y SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2% (SC2).

Los valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos, compartimentales y no compartimentales de enrofloxacin tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y subcutáneas de 15 mg/kg en solución del

polímero P407 al 25% (SC1) y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) aparecen en la Tabla 29.

Parámetros	IV	SC	SC1	SC2
$\lambda_z(1/h)$	0,09	0,05	0,02	0,02
$t_{1/2 \lambda_z}(h)$ *	8,11	13,00	34,80	38,66
$k_a(1/h)$	-	0,39	0,17	0,25
$t_{1/2 k_a}(h)$ *	-	1,79	4,11	2,73
$C_{max}(\mu g/L)$	-	3944,20	3965,44	4912,25
$T_{max}(h)$	--	3,20	8,00	5,20
$AUC_{0-24}(\mu g \cdot h/L)$	30089,33	31278,33	59851,27	60632,73
$AUC_{0-\infty}(\mu g \cdot h/L)$	31637,04	32765,34	76793,75	77764,91
$MRT(h)$	5,41	7,92	20,74	22,71
$MAT(h)$	-	3,16	15,33	17,30
$V_z(L/kg)$	2,01	-	-	-
$V_{ss}(L/kg)$	0,89	-	-	-
$Cl(L/kg/h)$	0,16	-	-	-
$F(\%)$	-	104,72	82,01	84,01

TABLA 29.- ENROFLOXACINO IV, SC, SC1 y SC2 PLASMA. Valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos en plasma tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacinó por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacinó por 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 (\pm SD) experimentales de concentración, en escala semilogarítmica, obtenidos a los distintos tiempos de extracción tras la administración de enrofloxacinó por las vías IV, SC, SC1 y SC2, aparecen en el Gráfico 17. También se han representado los valores medios (\pm SD) de las tres administraciones subcutáneas y en escala semilogarítmica en el Gráfico 18.

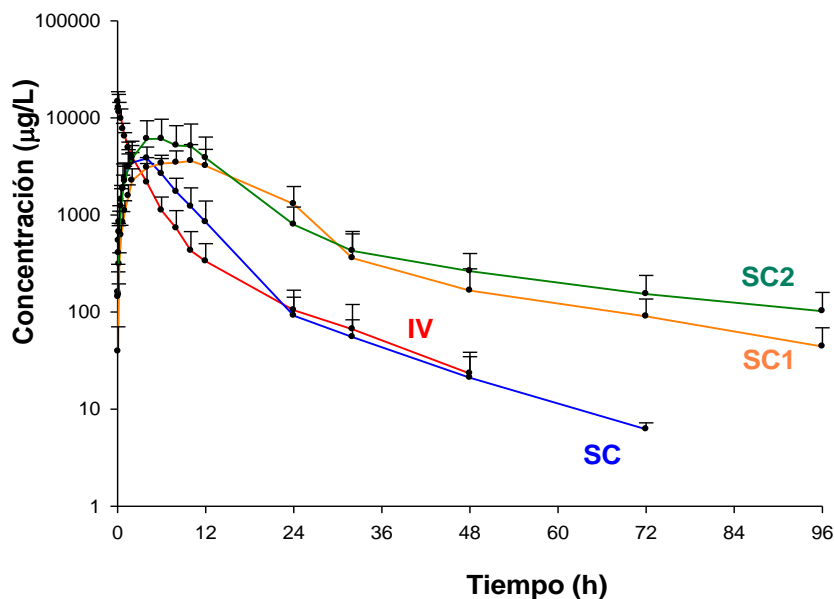


Gráfico 17.-ENROFLOXACINO IV, SC, SC1 y SC2 PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacino obtenidas tras la administración de una dosis de 5 mg/kg vía intravenosa (IV) y vía subcutánea (SC), y de 15mg/kg por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

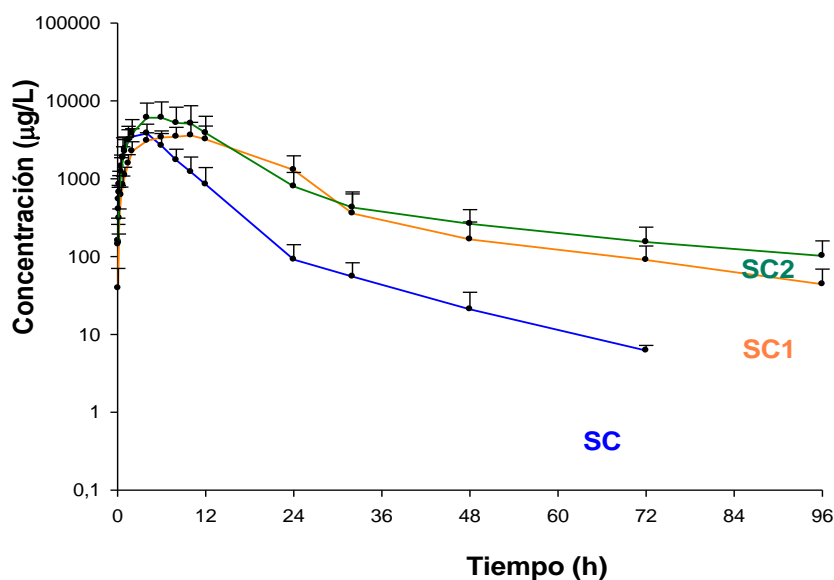


Gráfico 18.-ENROFLOXACINO SC, SC1 y SC2 PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacino obtenidas tras la administración de una dosis de 5 mg/kg vía subcutánea (SC), y de una dosis

de 15mg/kg 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 ovejas.

4.10.- COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE CIPROFLOXACINO TRAS SU ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA, SUBCUTÁNEA, SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% (SC1) Y SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2% (SC2).

Los valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ciprofloxacino tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y subcutáneas de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) aparecen en la Tabla 30.

Parámetros	IV	SC	SC1	SC2
$\lambda_z(1/h)$	0,11	0,07	0,10	0,03
$t_{1/2 \lambda_z}(h)$ *	6,83	10,62	7,15	20,61
$C_{max}(\mu g/L)$	260,34	213,11	351,98	186,78
$T_{max}(h)$	1,60	4,40	6,00	5,60
$AUC_{0-24}(\mu g \cdot h/L)$	1289,07	2112,16	4792,36	2268,87
$AUC_{0-\infty}(\mu g \cdot h/L)$	1361,52	2375,64	5966,09	3097,10
$MRT(h)$	6,36	11,90	16,78	21,39

TABLA 30.- CIPROFLOXACINO IV, SC, SC1 y SC2 PLASMA. Valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos en plasma tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de Ciprofloxacino por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y de una dosis de 15 mg/kg de Ciprofloxacino por 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 (\pm SD) experimentales de concentración, en escala semilogarítmica, obtenidos a los distintos tiempos de extracción tras la administración de enrofloxacin por las vías IV, SC, SC1 y SC2, aparecen en el Gráfico 19.

También se han representado los valores medios (\pm SD) de las tres administraciones subcutáneas y en escala semilogarítmica en el Gráfico 20.

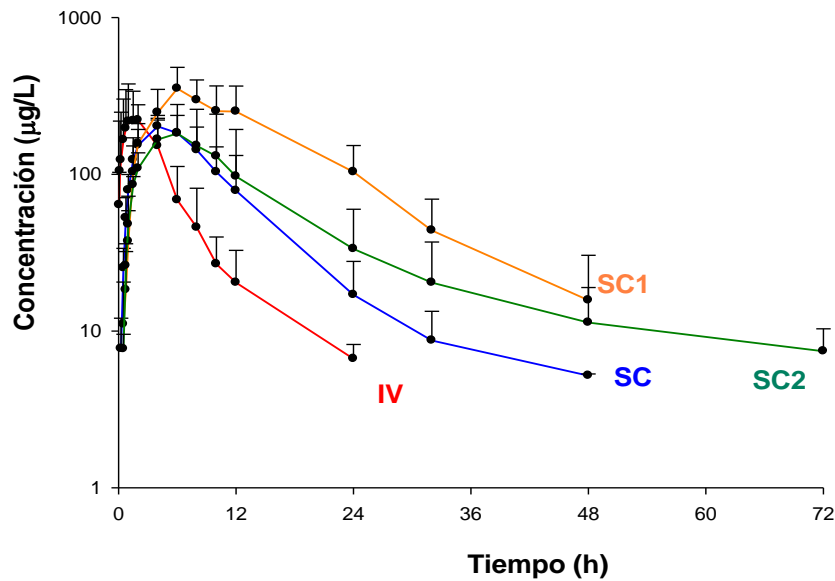


Gráfico 19.-CIPROFLOXACINO IV, SC, SC1 y SC2 PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino obtenidas tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y vía subcutánea (SC), y de 15mg/kg por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

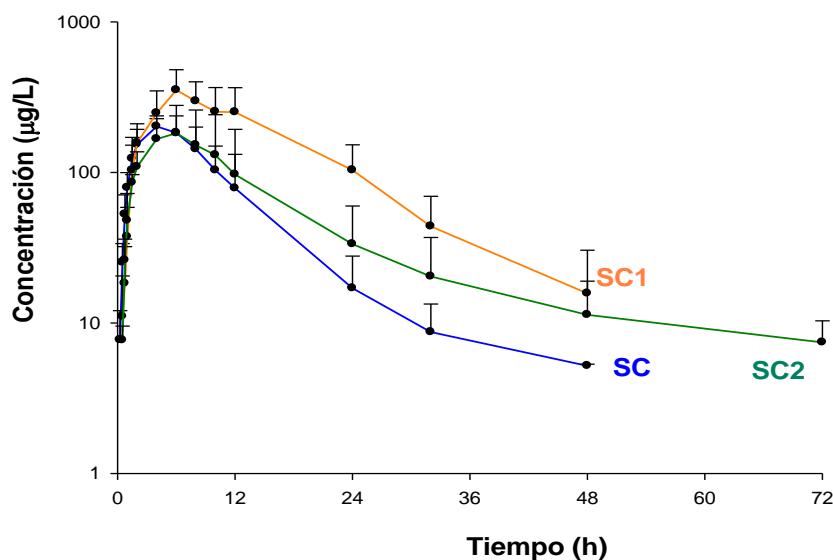


Gráfico 20.-CIPROFLOXACINO SC, SC1 y SC2 PLASMA. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino obtenidas tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino vía subcutánea (SC), y de una dosis de 15mg/kg vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

4.10.1.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

Estudio comparativo no paramétrico (H de Kruskal-Wallis) entre los principales parámetros farmacocinéticos compartimentales y no compartimentales obtenidos tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas. También se incluyen los datos del metabolito formado ciprofloxacino tras cada administración de enrofloxacino.

. $P < 0,05$: diferencias significativas; $P > 0,05$: diferencias no significativas.

Enrofloxacino	Plasma		
	Entre vías	Entre animales	Entre formulaciones
λ_1 (1/h)	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
$t_{1/2\lambda_1}$ (h)	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
λ_z (1/h)	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
$t_{1/2\lambda_z}$ (h)	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
k_a (1/h)	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
$t_{1/2k_a}$ (h)	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
MRT (h)	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
MAT (h)	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
C_{max} ($\mu\text{g/L}$)	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
C_{max} ($\mu\text{g/L}$)/D	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
T_{max} (h)	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
AUC_{0-24} ($\mu\text{g}\times\text{h/L}$)	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
AUC_{0-24} ($\mu\text{g}\times\text{h/L}$)/D	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\times\text{h/L}$)	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\times\text{h/L}$)/D	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
F (%)	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

TABLA 31.- Estudio comparativo no paramétrico (H de Kruskal-Wallis) entre los principales parámetros farmacocinéticos compartimentales y no compartimentales obtenidos tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

P<0,05: diferencias significativas; P>0,05: diferencias no significativas.

Ciprofloxacino	Plasma		
	Entre vías	Entre animales	Entre formulaciones
λ_z (1/h)	p<0,05	p>0,05	p>0,05
$t_{1/2\lambda_z}$ (h)	p<0,05	p>0,05	p>0,05
MRT (h)	p<0,05	p>0,05	p<0,05
C_{max} ($\mu\text{g/L}$)	p<0,05	p>0,05	p>0,05
C_{max} ($\mu\text{g/L}$)/D	p<0,05	p>0,05	p<0,05
T_{max} (h)	p<0,05	p>0,05	p<0,05
AUC_{0-24} ($\mu\text{g}\times\text{h/L}$)	p<0,05	p>0,05	p<0,05
AUC_{0-24} ($\mu\text{g}\times\text{h/L}$)/D	p<0,05	p>0,05	p<0,05
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\times\text{h/L}$)	p<0,05	p>0,05	p<0,05
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\times\text{h/L}$)/D	p<0,05	p>0,05	p>0,05

TABLA 32.- Estudio comparativo no paramétrico (H de Kruskal-Wallis) entre los principales parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para el ciprofloxacino, tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

P<0,05: diferencias significativas; P>0,05: diferencias no significativas.

La prueba de Kruskal-Wallis evalúa la hipótesis de que los valores de cada parámetro farmacocinético, dentro de cada una de las vías de administración, en todos los animales, son iguales o diferentes. Como resultado de dicha prueba, se observan diferencias significativas, para todas las vías, en la semivida de eliminación en la fase terminal ($t_{1/2\lambda_z}$), en la lambda Z (λ_z), en el tiempo medio de residencia (MRT) y en las áreas bajo la curva de concentración plasmática a las 24 horas (AUC_{0-24}) y a tiempo infinito ($AUC_{0-\infty}$), mientras que en la biodisponibilidad (F%) no se aprecian diferencias significativas. Por otro lado, se ha realizado la comparación entre las tres administraciones por vía extravascular: SC, SC1 y SC2. Como se

puede observar, existen diferencias significativas ($P < 0,05$) para todos los parámetros farmacocinéticos excepto en la concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$).

4.11.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE ENROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA.

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 33. Como se puede observar, las concentraciones del fármaco son detectables hasta las 32 horas, si bien, en la oveja 4 se puede detectar dicho fármaco hasta las 24 horas. Este hecho lo podemos observar en el Gráfico 19 en el que se representan las concentraciones correspondientes a cada animal con respecto al tiempo en escala semilogarítmica. En el gráfico 22 se representan los valores de concentración promediados en escala semilogarítmica.

Concentración excretada en leche para los animales sometidos a estudio (ovejas)								
TIEMPO	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	13128,67	5705,47	8950,76	11978,32	11644,28	10281,50	2981,34	29,00
2	8711,79	3689,51	5359,97	8984,71	7261,51	6801,50	2257,75	33,19
4	5266,28	2833,46	3319,32	5075,10	3865,55	4071,94	1069,54	26,27
6	1380,82	1415,96	1254,00	1301,91	1044,65	1279,47	145,94	11,41
8	710,01	973,28	854,51	717,22	598,89	770,78	145,02	18,81
10	431,23	623,14	592,30	358,61	357,29	472,51	127,47	26,98
12	335,41	470,44	419,54	237,77	255,21	343,67	101,16	29,44
24	33,98	111,98	46,48	28,07	39,47	52,00	34,22	65,81
32	13,08	43,18	11,03	-	12,63	19,98	15,49	77,53

TABLA 33.-ENROFLOXACINO IV-LECHE:Concentraciones experimentales de Enrofloxacin excretadas en leche, expresadas en $\mu\text{g/L}$, en cada oveja tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg junto con sus estadísticos asociados.

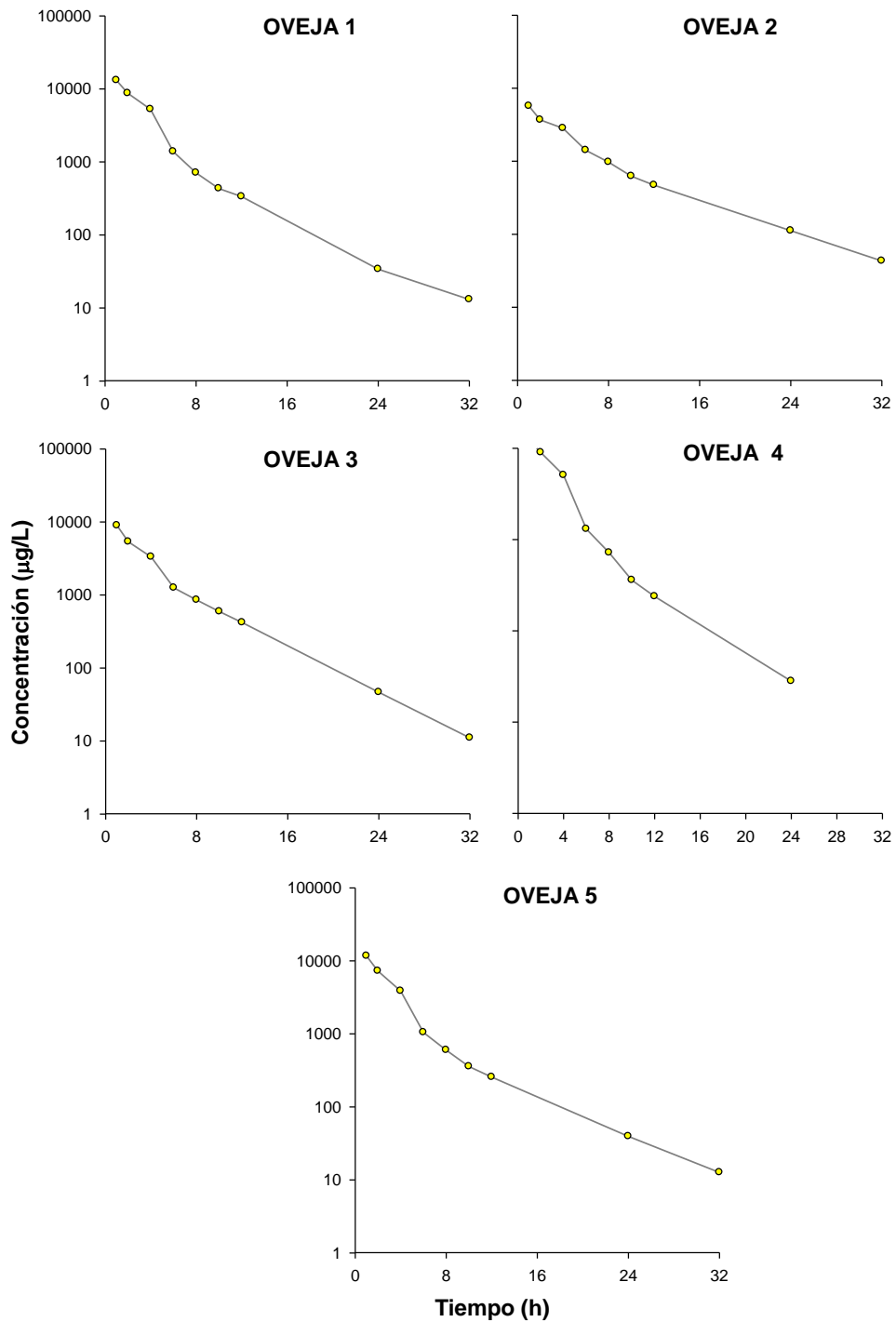


Gráfico 21.- ENROFLOXACINO IV-LECHE: Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de Enrofloxacino obtenidas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg vía intravenosa.

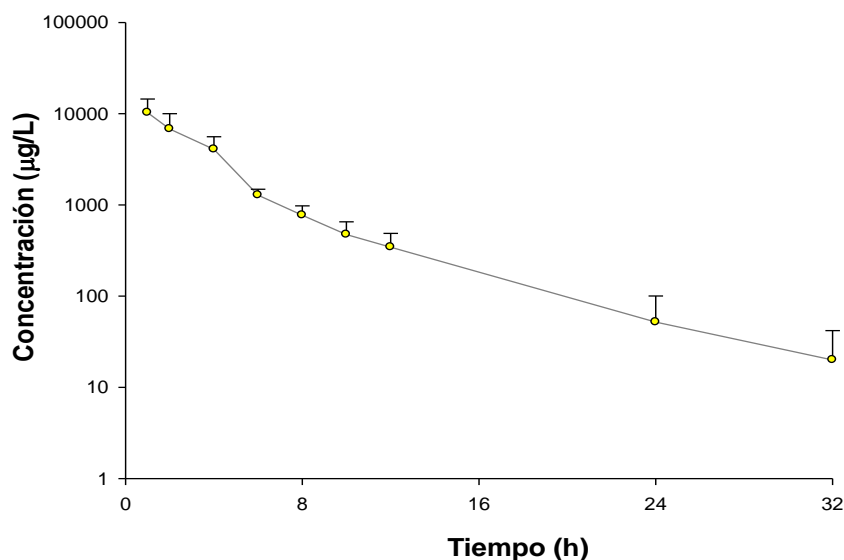


Gráfico 22.-MEDIAENROFLOXACINO IV-LECHE:Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de Enrofloxacinó excretadas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg vía intravenosa (IV) en ovejas.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, y al igual que en el caso de las administraciones plasmáticas, se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de Enrofloxacinó no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 34).

Concentraciones en Leche para Enrofloxacinó 5mg/Kg IV

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

TABLA 34.- ENROFLOXACINO IV-LECHE: Test estadísticos de Kruskal-Wallis para las concentraciones de enrofloxacinó excretadas en leche, tras la administración de una dosis intravenosa de 5 mg/kg a ovejas.

En la Tabla 35, se muestran las cantidades de enrofloxacin, en microgramos, excretadas en leche para cada animal, para los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración intravenosa de 5 mg/kg de peso, junto con los estadísticos de desviación correspondientes:

Tiempo	Cantidad excretada en leche para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	2100,59	542,02	1790,15	3294,04	756,88	1696,74	1111,29	65,50
2	34,85	3,69	214,40	1168,01	1270,76	538,34	627,94	116,64
4	210,65	85,00	82,98	380,63	212,61	194,38	122,13	62,83
6	172,60	247,79	188,10	455,67	470,09	306,85	145,26	47,34
8	110,05	73,00	187,99	50,21	152,72	114,79	56,43	49,16
10	69,00	99,70	133,27	71,72	89,32	92,60	26,02	28,10
12	28,51	39,99	83,91	35,67	47,21	47,06	21,69	46,09
24	27,18	159,57	47,64	35,37	91,18	72,19	54,73	75,81
32	5,76	31,31	8,60		12,63	14,57	11,51	78,95
Cantidad total	2759,19	1282,07	2737,05	5491,31	3103,40	-	-	-

TABLA 35.-CANTIDAD DE ENROFLOXACINO VIA- IV-LECHE: Cantidad de Enrofloxacin excretada en leche, en microgramos, en cada oveja tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg junto con sus parámetros estadísticos de desviación.

Los valores de concentración de enrofloxacin para cada oveja en la leche se han sometido a un análisis no compartimental. En la Tabla 36 aparecen los principales parámetros farmacocinéticos analizados junto con sus valores medios y estadísticos de desviación. También se muestran los ratios AUC_{leche}/AUC_{plasma} , $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$ (obtenidos a partir de los datos del análisis no compartimental), así como el porcentaje de excreción en leche que se calcula según la siguiente expresión:

$$\% \text{ excreción} = 100 \cdot \frac{\text{cantidad excretada en leche}}{\text{Dosis} \cdot \text{Peso del animal}}$$

Parámetros	Animales sometidos a estudio (ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
$C_{m\acute{a}x}$	13128,67	5705,47	8950,76	11978,32	11644,28	10281,50	2981,34	29,00
$T_{m\acute{a}x}$	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00
AUC_{∞}	34936,15	27363,43	27882,88	35681,16	28256,89	30824,10	4114,53	13,35
AUC_{24H}	42306,96	26064,82	30788,87	40397,37	34719,33	34855,47	6709,49	19,25
MRT	3,63	6,34	4,45	3,45	3,66	4,31	1,20	27,83
MIT	0,14	0,102	0,13	0,15	0,13	0,13	0,02	13,74
AUC_{leche}/AUC_{plasma}	1,39	0,79	0,75	1,17	0,93	1,00	0,27	27,05
$C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$	0,97	0,44	0,44	0,61	0,60	0,61	0,22	35,31
% excreción	0,65	0,33	0,64	1,86	0,74	0,84	0,59	70,00

TABLA 36.- ENROFLOXACINO IV-LECHE: Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de la leche tras la administración intravenosa de Enrofloxacin, a dosis de 5 mg/kg, a cada una de las ovejas junto con sus estadísticos de desviación.

En el Gráfico 23 se representan, en escala semilogarítmica, las concentraciones promediadas (media \pm SD) detectadas en plasma y en leche, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin. En el gráfico 24 se representan sus respectivos valores individuales. En ambos gráficos se puede observar cómo la concentración de enrofloxacin en leche es superior a la plasmática en las primeras 8 horas y se mantiene en los mismos valores que la plasmática desde las 8 hasta las 12 horas. A partir de dicho momento ya se aprecian concentraciones inferiores en leche con respecto a las concentraciones plasmáticas. En las ovejas 2 y 3 se aprecian concentraciones de enrofloxacin similares en leche y plasma a lo largo de las primeras 10 horas, y a partir de dicho momento las concentraciones en leche observadas son inferiores a las plasmáticas.

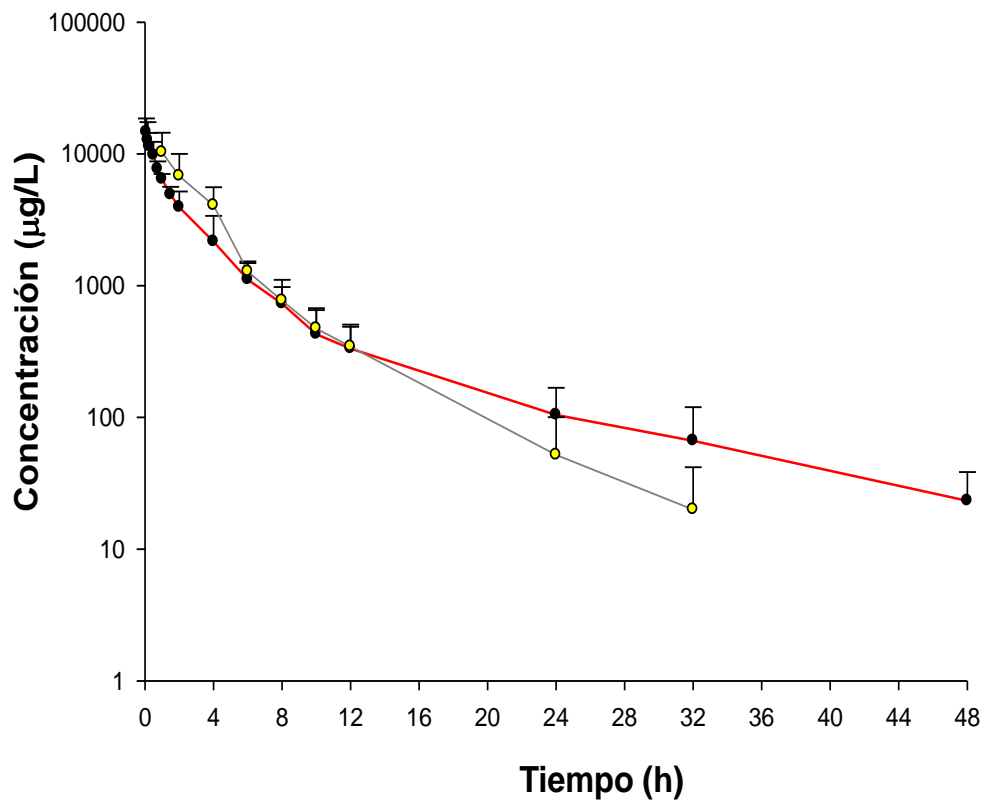


Gráfico 23.- MEDIA ENROFLOXACINO IV-PLASMA-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacinó obtenidas en plasma (*línea roja*), y en leche (*línea gris*), tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg a ovejas.

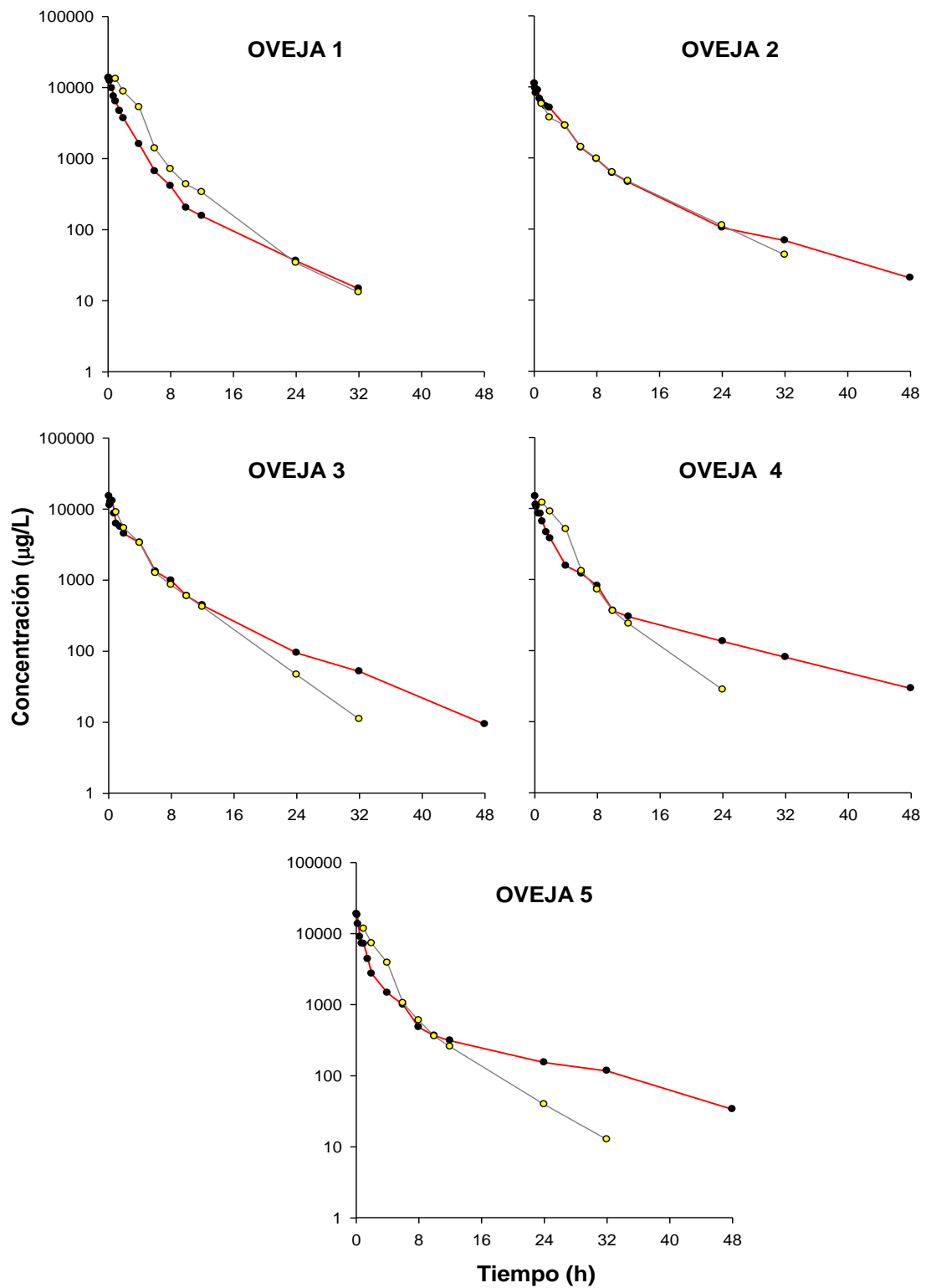


Gráfico 24.- ENROFLOXACINO IV-PLASMA-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas experimentales de Enrofloxacin (*línea roja*), y las

concentraciones experimentales detectadas en leche (*línea gris*), obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg a cada oveja por vía intravenosa.

4.12.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE CIPROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA.

Las concentraciones de ciprofloxacino (metabolito del enrofloxacino) excretadas en leche se muestran a continuación en la tabla 37:

Concentración excretada en leche para los animales sometidos a estudio (ovejas)								
TIEMPO	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	1011,41	441,07	907,81	1136,53	2657,93	1230,95	839,90	68,23
2	3584,83	811,90	2902,29	6294,30	4991,00	3716,87	2350,12	63,23
4	4350,87	1170,67	4772,12	6373,56	6641,97	4661,84	2187,92	46,93
6	3082,12	1907,76	3189,54	4077,98	3475,50	3146,58	793,15	25,21
8	2471,68	1951,12	2365,73	2762,94	2197,06	2349,71	303,34	12,91
10	1855,25	1693,68	1718,07	1713,67	1333,47	1662,83	194,99	11,73
12	1430,34	1287,20	1195,06	989,71	833,95	1147,25	237,16	20,67
24	225,02	343,61	221,67	109,05	202,35	220,34	83,56	37,92
32	75,41	126,28	97,01	32,07	55,88	77,33	36,39	47,05
48	9,07	42,27	18,97	-	11,31	20,40	15,18	74,41

TABLA 37.- CIPROFLOXACINO IV-LECHE Concentraciones experimentales de Ciprofloxacino como metabolito, excretadas en leche, expresadas en µg/L, en cada oveja tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de Enrofloxacino junto con sus estadísticos asociados.

A continuación se representan, en escala semilogarítmica, las concentraciones promediadas (media ± SD) detectadas experimentalmente en leche de ciprofloxacino tras la administración de enrofloxacino a dosis de 5mg/kg por vía intravenosa(gráfico 26) así como las concentraciones de cada oveja individual (gráfico 25).

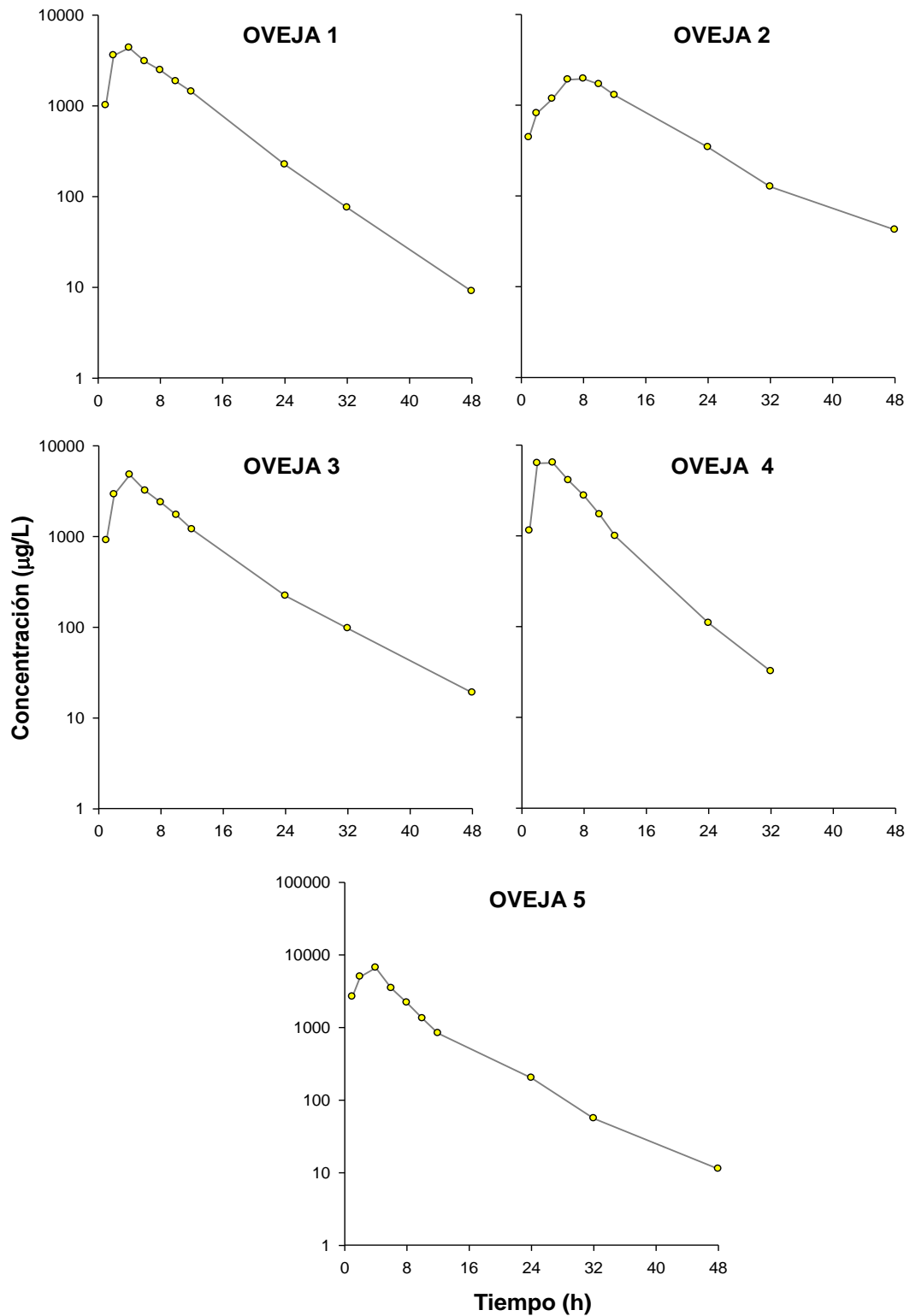


Gráfico 25.-CIPROFLOXACINO IV-LECHE. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de Ciprofloxacino obtenidas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de Enrofloxacinó vía intravenosa.

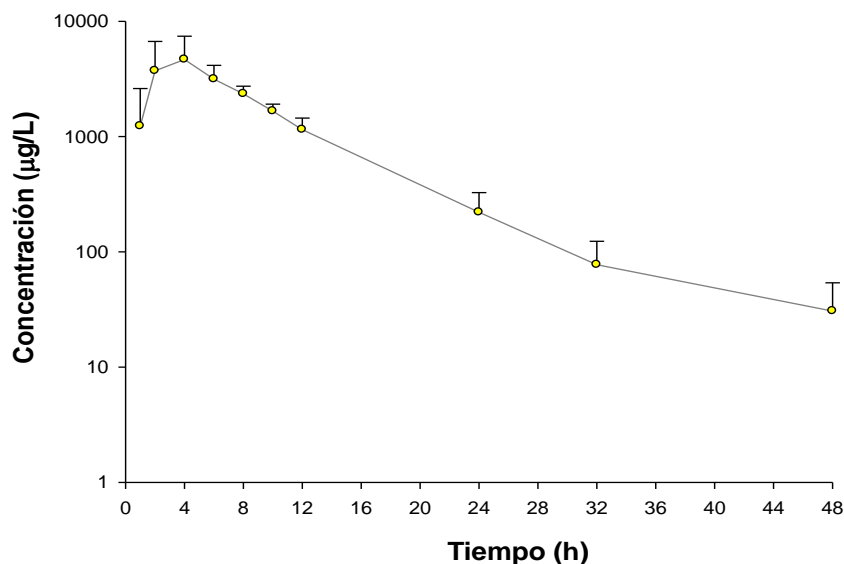


Gráfico 26.- CIPROFLOXACINO IV-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino excretadas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg vía intravenosa (IV) de enrofloxacino en ovejas.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, y al igual que en el caso de las administraciones anteriores, se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de ciprofloxacino no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 38).

Concentraciones en Leche para Ciprofloxacino 5mg/Kg IV de Enrofloxacino

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

TABLA 38.- CIPROFLOXACINO IV-LECHE: Test estadísticos de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino excretadas en leche, tras la administración de una dosis intravenosa de 5 mg/kg de enrofloxacino a ovejas.

En la Tabla 39, se muestran las cantidades de ciprofloxacino, en microgramos, excretadas en leche para cada animal, para los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración intravenosa de enrofloxacino de concentración 5 mg/kg de peso, junto con los estadísticos de desviación correspondientes:

Tiempo	Cantidad excretada en leche para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	161,83	41,90	181,56	312,55	172,77	174,12	95,98	55,13
2	14,34	0,41	116,09	818,26	873,43	374,91	455,83	121,59
4	174,03	35,12	119,30	478,02	365,31	234,36	182,41	77,83
6	385,27	333,86	478,43	1427,29	1563,98	837,76	604,72	72,18
8	383,11	146,33	520,46	193,41	560,25	360,71	186,94	51,83
10	296,84	270,99	386,57	342,73	333,37	326,10	44,38	13,61
12	121,58	109,41	239,01	148,46	154,28	154,55	50,73	32,83
24	180,02	489,64	227,21	137,40	467,43	300,34	165,93	55,25
32	33,18	91,55	75,67	18,44	55,88	54,94	29,90	54,42
48	7,98	48,19	31,49	0,00	19,45	26,78	17,20	64,23
Cantidad total	1758,17	1567,41	2375,80	3876,55	4566,13	2828,89	1328,31	46,96

TABLA 39.-CANTIDAD CIPROFLOXACINO IV-LECHE: Cantidad de Ciprofloxacino excretada en leche, en microgramos, en cada oveja tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg junto con sus estadísticos de desviación.

Los valores de concentración de Ciprofloxacino para cada oveja en la leche se han sometido a análisis no compartimental. En la Tabla 40 aparecen los principales parámetros farmacocinéticos analizados junto con sus valores medios y estadísticos de desviación. También se muestran los ratios AUC_{leche}/AUC_{plasma} , $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$ (obtenidos a partir de los datos del análisis no compartimental), así como el porcentaje de excreción en leche que se calcula según

la siguiente expresión:

$$\% \text{ excreción} = 100 \cdot \frac{\text{cantidad excretada en leche}}{\text{Dosis} \cdot \text{Peso del animal}}$$

Parámetros	Animales sometidos a estudio (ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
$C_{m\acute{a}x}$	4350,87	1951,12	4772,12	6694,30	6641,97	4882,08	1953,60	40,02
$T_{m\acute{a}x}$	4,00	8,00	4,00	2,00	4,00	4,40	2,19	49,79
AUC_{∞}	38665,62	28476,37	38217,39	42866,24	41364,90	37918,10	5616,03	14,81
AUC24H	42306,96	26064,82	30788,87	40397,37	34719,33	34855,47	6709,48	19,25
MRT	8,79	13,23	9,13	6,64	7,20	9,15	2,93	32,03
MIT	1,19	0,81	1,14	1,19	0,66	1,00	0,25	24,72
AUC_{leche}/AUC_{plasma}	28,18	24,63	23,12	33,80	30,45	28,04	4,32	15,42
$C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$	16,47	12,16	19,62	28,54	16,63	18,69	6,12	32,75
% excreción	0,32	0,30	0,62	1,59	0,59	0,63	0,53	84,08

TABLA 40.- CIPROFLOXACINO IV-LECHE: Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de la leche tras la administración intravenosa de ciprofloxacino, a dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, a cada una de las ovejas junto con sus estadísticos de desviación.

En el Gráfico 27 se representa, en escala semilogarítmica, las concentraciones promediadas de Ciprofloxacino (media \pm SD) detectadas en plasma y en leche, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de Enrofloxacin. En el gráfico 28 se representan sus respectivos valores individuales. En los Gráficos 27 y 28 puede observarse como las concentraciones en leche de Ciprofloxacino son superiores a las plasmáticas a partir de las 2 horas y a lo largo del tiempo se mantienen por encima de los valores en plasma.

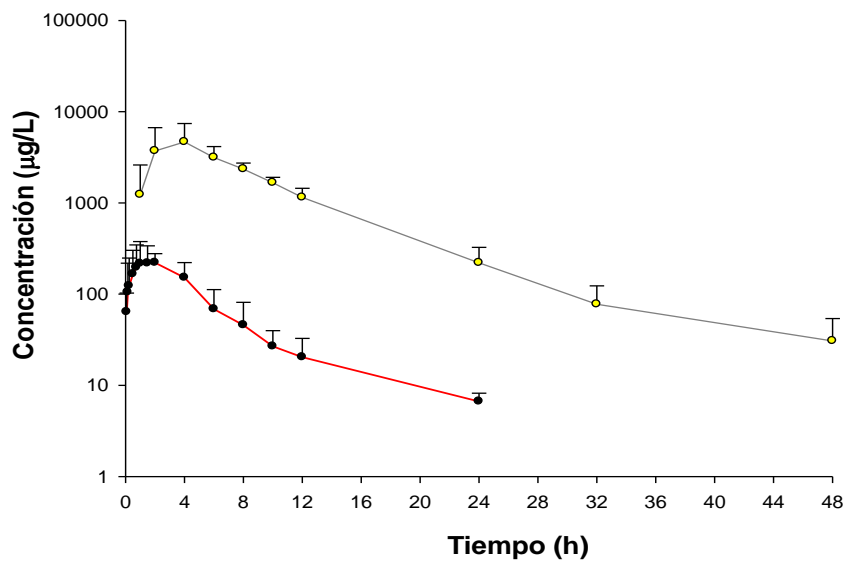


Gráfico 27.-MEDIA CIPROFLOXACINO IV-PLASMA-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacinó obtenidas en plasma (*línea roja*), y en leche (*línea gris*), tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg a ovejas.

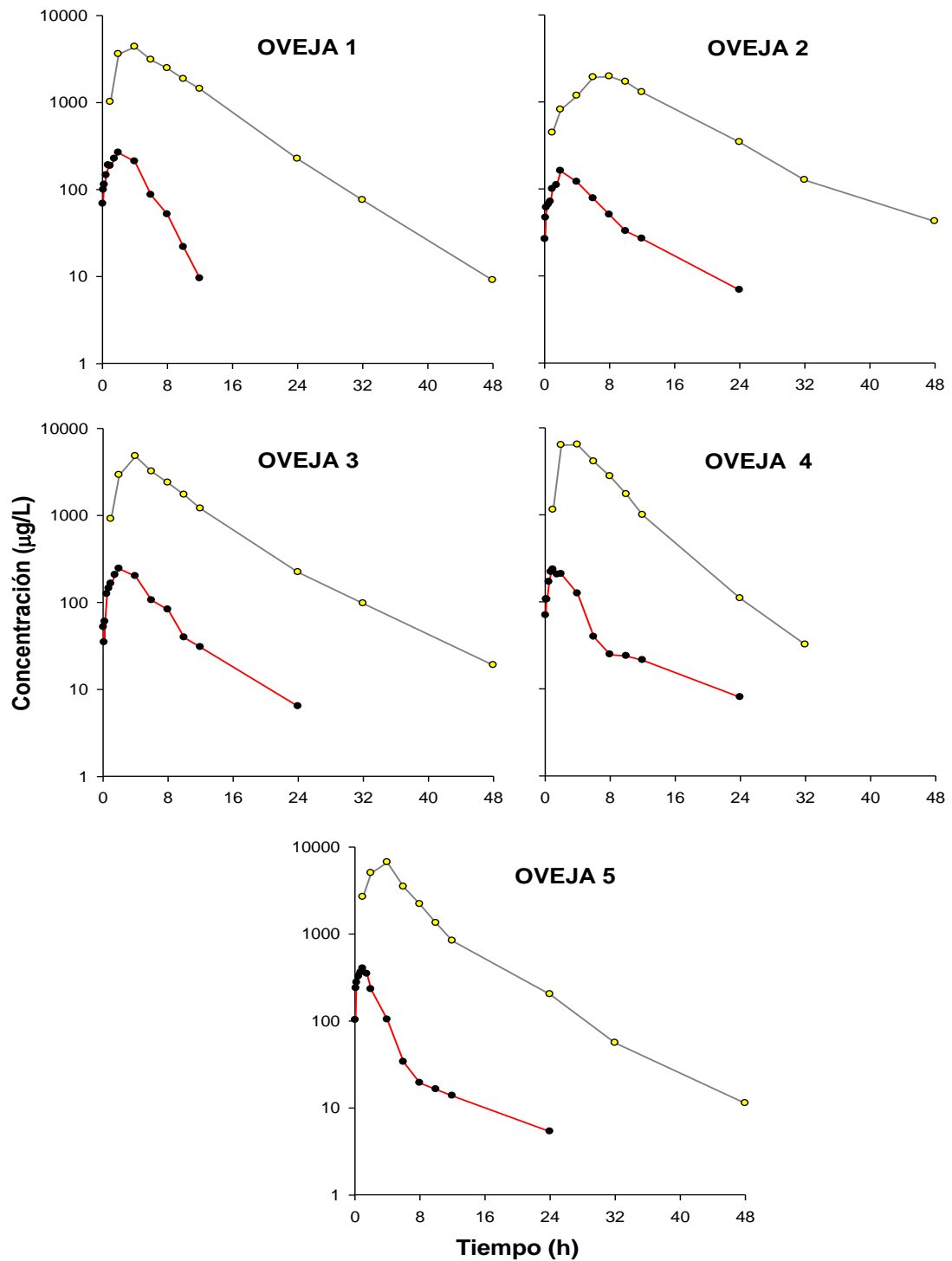


Gráfico 28.- CIPROFLOXACINO IV-PLASMA-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas experimentales de ciprofloxacino (*línea roja*), y las concentraciones experimentales detectadas en leche (*línea gris*), obtenidas tras la

administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin a cada oveja por vía intravenosa.

4.13.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE ENROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA.

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 41. Como se puede observar, las concentraciones del fármaco son detectables hasta las 48 horas, si bien, en la oveja 5 se puede detectar dicho fármaco hasta las 24 horas. Este hecho se refleja en el Gráfico 29 de las representaciones semilogarítmicas de las concentraciones correspondientes a cada animal. En el gráfico 30 se representan los valores de concentración promediados en escala semilogarítmica.

Concentración excretada en leche para los animales sometidos a estudio (ovejas)								
TIEMPO	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	414,12	396,24	480,41	546,28	510,13	469,44	63,44	13,51
2	1145,97	1315,09	1184,26	1327,15	1064,79	1207,45	112,45	9,31
4	1490,51	2504,14	1698,14	1537,21	1430,83	1732,17	442,81	25,56
6	1311,41	1329,01	1217,28	1296,54	1006,49	1232,15	133,18	10,81
8	970,13	1004,22	755,33	852,31	861,00	888,60	99,82	11,23
10	668,86	773,05	492,11	730,81	551,79	643,32	118,72	18,45
12	462,43	581,74	349,34	567,59	430,62	477,57	98,25	20,56
24	107,59	75,12	50,36	85,56	54,22	74,57	23,51	31,53
32	87,78	30,37	48,12	31,07	51,36	49,74	23,32	46,89
48	59,95	10,43	26,63	12,06	28,33	27,48	19,90	72,42

TABLA 41.- ENROFLOXACINO SC-LECHE Concentraciones experimentales de enrofloxacin excretadas en leche, expresadas en µg/L, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg junto con sus estadísticos asociados.

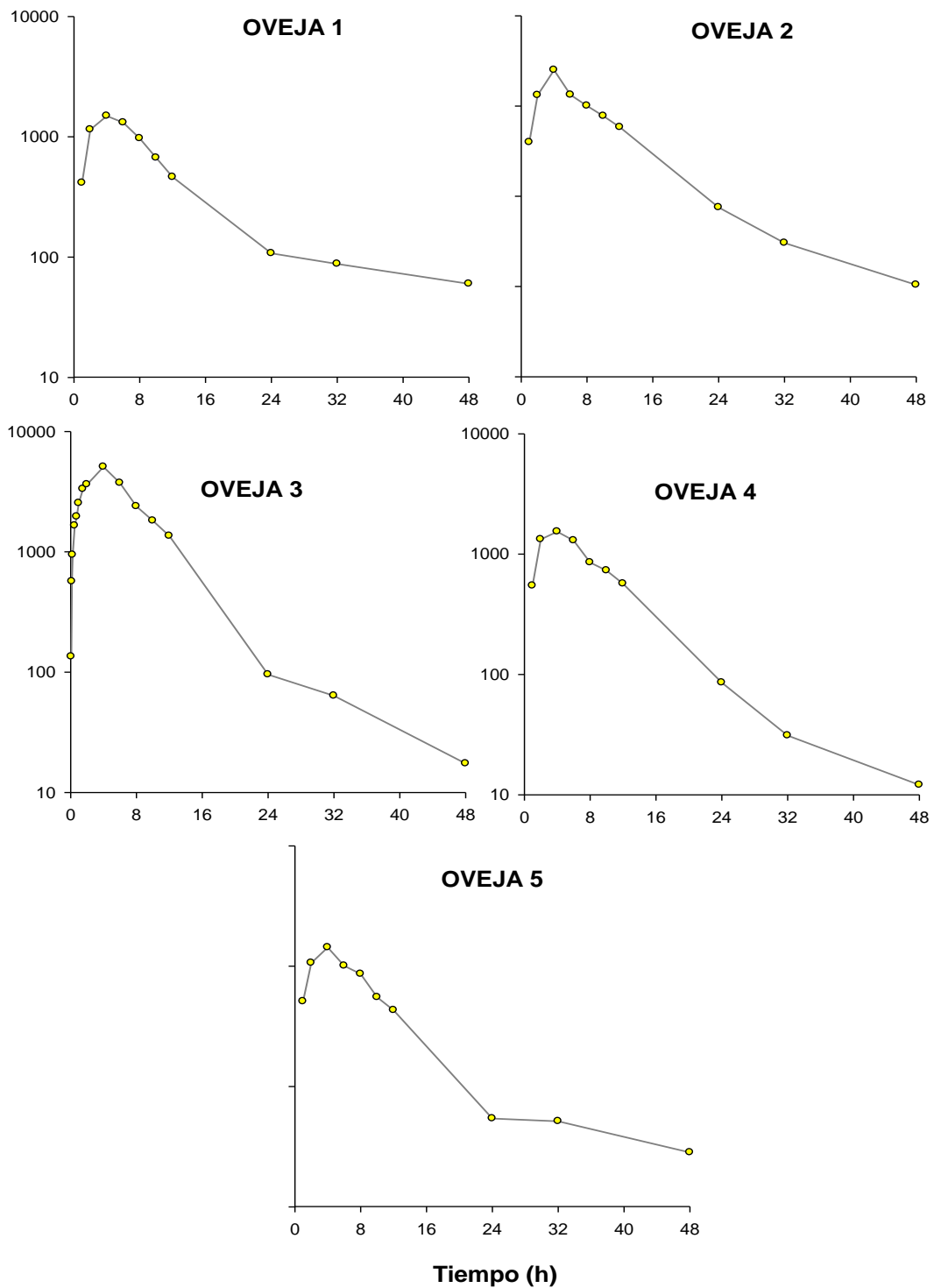


Gráfico 29.-ENROFLOXACINO SC-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de enrofloxacin obtenidas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg vía subcutánea.

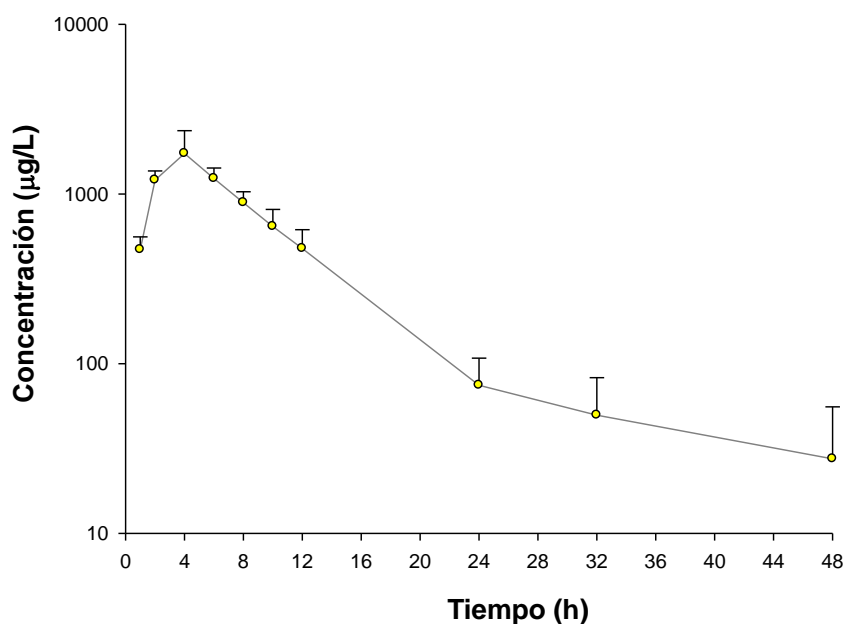


Gráfico 30.-MEDIAENROFLOXACINO SC-LECHE: Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacino excretadas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg vía subcutánea (SC) en ovejas.

Se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de enrofloxacino no varían entre animales, y que no varían entre tiempos, al igual que en las administraciones anteriores, para comprobar que los datos son homogéneos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 42).

Concentraciones en plasma para Enrofloxacino 5mg/Kg via subcutánea

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

TABLA 42.- ENROFLOXACINO SC-LECHE: test estadísticos de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino excretadas en leche, tras la administración de una dosis subcutánea de 5 mg/kg a ovejas.

En la Tabla 43, se muestran las cantidades de Enrofloxacin, en microgramos, excretadas en leche para cada animal, para los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración subcutánea de 5 mg/kg de peso, junto con los estadísticos de desviación correspondientes:

Tiempo	Cantidad excretada en leche para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	28,99	17,83	57,65	147,50	15,30	53,45	55,19	103,25
2	108,87	131,51	29,61	126,08	42,59	87,73	48,09	54,81
4	59,62	350,58	322,65	107,60	71,54	182,40	142,23	77,98
6	183,60	146,19	316,49	453,79	301,95	280,40	121,67	43,39
8	106,71	75,32	283,25	183,25	249,69	179,64	89,24	49,68
10	117,05	61,84	36,91	164,43	129,67	101,98	51,82	50,81
12	25,43	354,86	90,83	93,65	77,51	128,46	129,51	100,82
24	61,86	28,17	30,22	100,53	96,24	63,40	34,65	54,65
32	27,21	20,65	37,53	39,15	-	31,14	8,76	28,15
48	49,16	4,17	33,02	18,33	-	26,17	19,33	73,86
Cantidad total	768,51	1191,13	1239,09	1434,31	984,50	-	-	-

TABLA 43.- CANTIDAD ENROFLOXACINO SC-LECHE Cantidad de enrofloxacin excretada en leche, en microgramos, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg junto con sus estadísticos de desviación.

Las concentraciones obtenidas de Enrofloxacin en la leche para la administración por vía subcutánea se han sometido a análisis farmacocinético no compartimental. En la Tabla 44 aparecen los principales parámetros farmacocinéticos analizados junto con sus valores medios y estadísticos de desviación. También se muestran los ratios AUC_{leche}/AUC_{plasma} , $C_{máx-leche}/C_{máx-plasma}$ (obtenidos a partir de los datos del análisis no compartimental), así como el porcentaje de excreción en leche que se calcula según la siguiente expresión:

$$\% \text{ excreción} = 100 \cdot \frac{\text{cantidad excretada en leche}}{\text{Dosis} \cdot \text{Peso del animal}}$$

Parámetros	Animales sometidos a estudio (ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
$C_{\text{máx}}$	1490,51	2504,14	1698,14	1537,21	1430,83	1732,17	442,81	25,56
$T_{\text{máx}}$	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	0,00	0,00
AUC_{∞}	17233,40	16571,85	13338,31	15500,35	13614,66	15251,71	1737,29	11,39
AUC_{24H}	14897,45	16983,95	12694,12	14947,54	12361,42	14376,90	1889,92	13,15
MRT	8,90	8,29	8,27	8,81	8,87	8,63	0,32	3,70
MIT	0,87	1,1	0,77	0,91	0,76	0,88	0,14	15,62
$AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plas}}$	0,50	0,39	0,39	0,52	0,59	0,48	0,09	18,24
$C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$	0,34	0,49	0,43	0,53	0,41	0,44	0,07	16,64
% excreción	0,18	0,31	0,30	0,30	0,27	0,27	0,05	19,34

TABLA 44.- ENROFLOXACINO SC-LECHE Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de la leche tras la administración intravenosa de Enrofloxacin, a dosis de 5 mg/kg, a cada una de las ovejas junto con sus estadísticos de desviación.

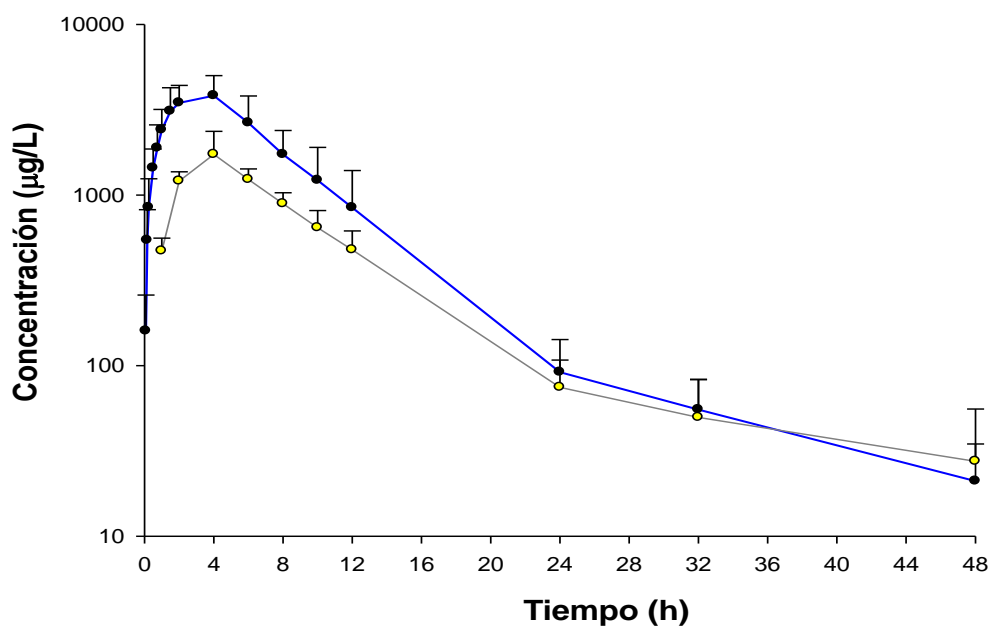


Gráfico 31.-MEDIA ENROFLOXACINO SC-PLASMA-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de Enrofloxacin obtenidas en plasma (*línea azul*), y en leche (*línea gris*), tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de Enrofloxacin a ovejas.

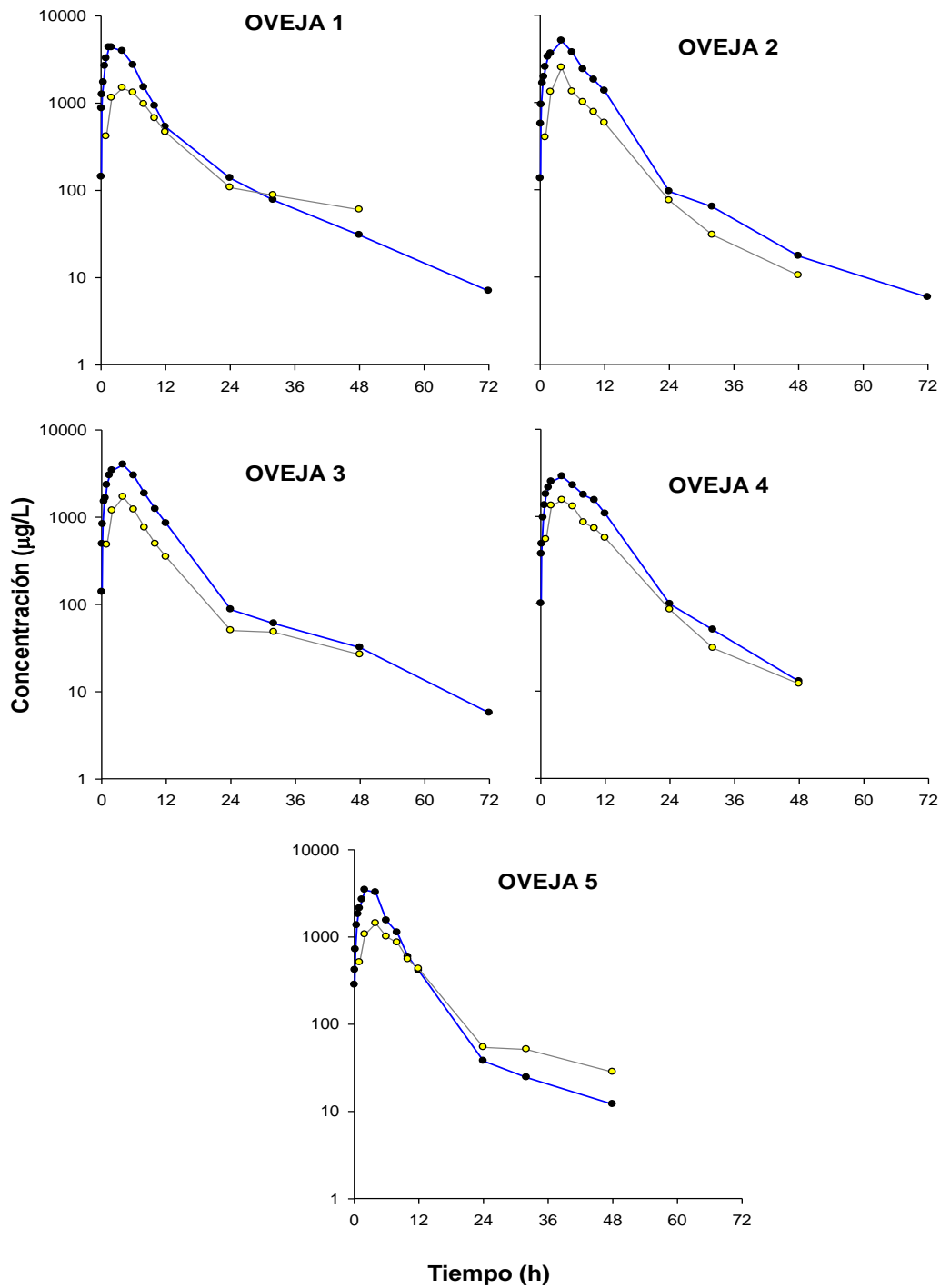


Gráfico 32.- ENROFLOXACINO SC-PLASMA-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas experimentales de Enrofloxacin (línea azul), y las concentraciones experimentales detectadas en leche (línea gris), obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de Enrofloxacin a cada oveja por vía subcutánea.

En los Gráficos 31 y 32 puede observarse como las concentraciones en leche de enrofloxacin para la vía subcutánea son inferiores a las plasmáticas durante las primeras 24 horas, manteniéndose a partir de ese momento en las ovejas 1 y 5 en niveles ligeramente superiores a los plasmáticos.

4.14.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE CIPROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA.

Las concentraciones experimentales de Ciprofloxacino, obtenidas en la leche de los animales tratados con una dosis intravenosa de 5 mg/kg de peso de Enrofloxacin, se muestran en la Tabla 45. Como se puede observar, las concentraciones del fármaco son detectables hasta las 48 horas. Este hecho se refleja en el Gráfico 33 de las representaciones semilogarítmicas de las concentraciones correspondientes a cada animal. En el gráfico 34 se representan los valores de concentración promediados en escala semilogarítmica.

Concentración excretada en leche para los animales sometidos a estudio (ovejas)								
TIEMPO	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	28,89	30,36	64,78	108,14	121,35	70,70	42,95	60,74
2	289,33	422,62	720,41	1240,69	636,96	662,00	365,75	55,25
4	628,89	1280,54	1309,76	2684,16	909,75	1362,62	790,48	58,01
6	1927,11	1187,33	2438,26	3054,30	3220,47	2365,49	835,31	35,31
8	1840,89	1258,29	2099,76	3424,43	1899,91	2104,66	801,51	38,08
10	1754,67	1041,62	1782,03	3687,78	1575,16	1968,25	1006,26	51,12
12	1415,18	838,88	1479,21	3000,48	1098,09	1566,37	841,97	53,75
24	434,67	190,26	380,02	685,07	122,91	362,59	221,72	61,15
32	242,22	60,85	158,26	279,64	68,48	162,29	98,61	60,76
48	139,15	16,79	65,32	45,70	29,85	59,36	48,14	81,10

TABLA 45.- CIPROFLOXACINO SC-LECHE Concentraciones experimentales de ciprofloxacino excretadas en leche, expresadas en $\mu\text{g/L}$, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg junto con sus estadísticos asociados.

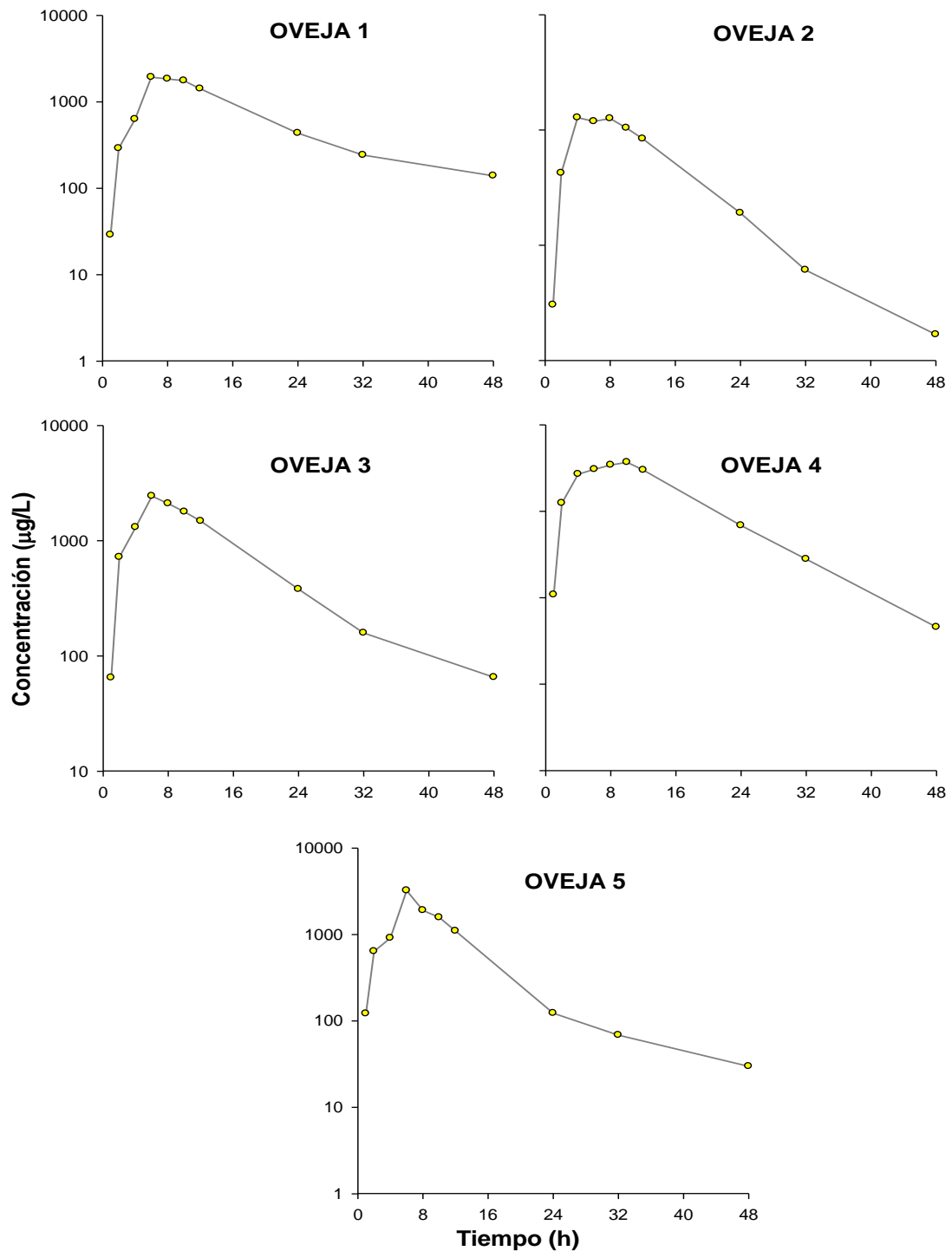


Gráfico 33.- CIPROFLOXACINO SC-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de Ciprofloxacino obtenidas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de Enrofloxacinó vía subcutánea.

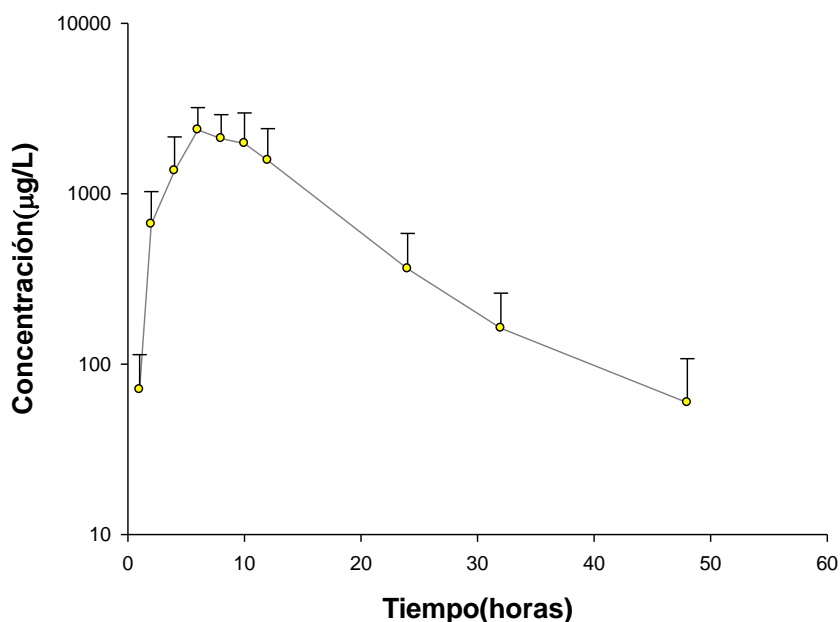


Gráfico 34.- CIPROFLOXACINO SC-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino excretadas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacinó por vía subcutánea (SC) en ovejas.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, se ha realizado un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de ciprofloxacino no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). (Tabla 46).

Concentraciones en Leche para Ciprofloxacino 5mg/Kg IV de Enrofloxacinó

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

TABLA 46.- CIPROFLOXACINO SC-LECHE Test estadísticos de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino excretadas en leche, tras la administración de una dosis subcutánea de 5 mg/kg de enrofloxacin a ovejas.

En la Tabla 47, se muestran las cantidades de Ciprofloxacino, en microgramos, excretadas en leche para cada animal, para los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración subcutánea de 5 mg/kg de peso de enrofloxacin, junto con los estadísticos de desviación correspondientes:

Tiempo	Cantidad excretada en leche para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	2,02	1,37	7,77	29,20	3,64	8,80	11,67	132,64
2	27,49	42,26	18,01	117,87	25,48	46,22	41,01	88,72
4	25,16	179,28	248,85	187,89	45,49	137,33	97,17	70,76
6	269,80	130,61	633,95	1069,01	966,14	613,90	413,39	67,34
8	202,50	94,37	787,41	736,25	550,97	474,30	312,55	65,90
10	307,07	83,33	133,65	829,75	370,16	344,79	295,89	85,82
12	77,83	511,72	384,59	495,08	197,66	333,38	189,93	56,97
24	249,94	71,35	228,01	804,96	218,17	314,48	283,11	90,02
32	75,09	41,38	123,44	352,35	61,63	130,78	127,50	97,49
48	114,10	6,72	81,00	69,46	35,22	61,30	41,54	67,76
Cantidad total	1350,99	1162,37	0,94	4691,81	2474,56	1936,13	1772,69	

TABLA 47.- CIPROFLOXACINO SC-LECHE Cantidad de Ciprofloxacino excretada en leche, en microgramos, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin junto con sus valores estadísticos de desviación. Los valores de concentración de ciprofloxacino para cada oveja en la leche para la administración por vía subcutánea se han sometido a análisis farmacodinámico no compartimental.

En la Tabla 48 aparecen los principales parámetros farmacocinéticos analizados junto con sus valores medios y estadísticos de desviación. También se muestran los ratios AUC_{leche}/AUC_{plasma} , $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$ (obtenidos a partir de los datos del análisis no

compartimental), así como el porcentaje de excreción en leche que se calcula según la siguiente

expresión:
$$\% \text{ excreción} = 100 \cdot \frac{\text{cantidad excretada en leche}}{\text{Dosis} \cdot \text{Peso del animal}}$$

Parámetros	Animales sometidos a estudio (ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
$C_{\text{máx}}$	1927,11	1258,29	2438,26	3687,78	3220,47	2506,38	975,14	38,91
$T_{\text{máx}}$	6,00	8,00	6,00	10,00	6,00	7,20	1,79	24,85
AUC_{∞}	27974,17	16846,87	31419,30	55087,81	22374,18	30740,47	14696,37	47,81
AUC_{24H}	25280,29	16268,79	27563,31	49459,03	22574,84	28229,25	12598,30	44,63
MRT	15,5471	13,4848	13,1248	13,2246	10,2638	13,13	1,89	14,37
MIT	5,44	3,04	2,90	3,47	2,26	3,42	1,21	35,32
$AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$	12,45	8,83	13,03	16,78	11,03	12,42	2,92	23,52
$C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$	8,76	6,98	12,30	14,99	14,57	11,52	3,54	30,75
% excreción	0,32	0,30	0,64	0,97	0,69	0,60	0,28	47,06

TABLA 48.- CIPROFLOXACINO SC-LECHE Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de la leche tras la administración subcutánea de ciprofloxacino, a dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, a cada una de las ovejas junto con sus estadísticos de desviación.

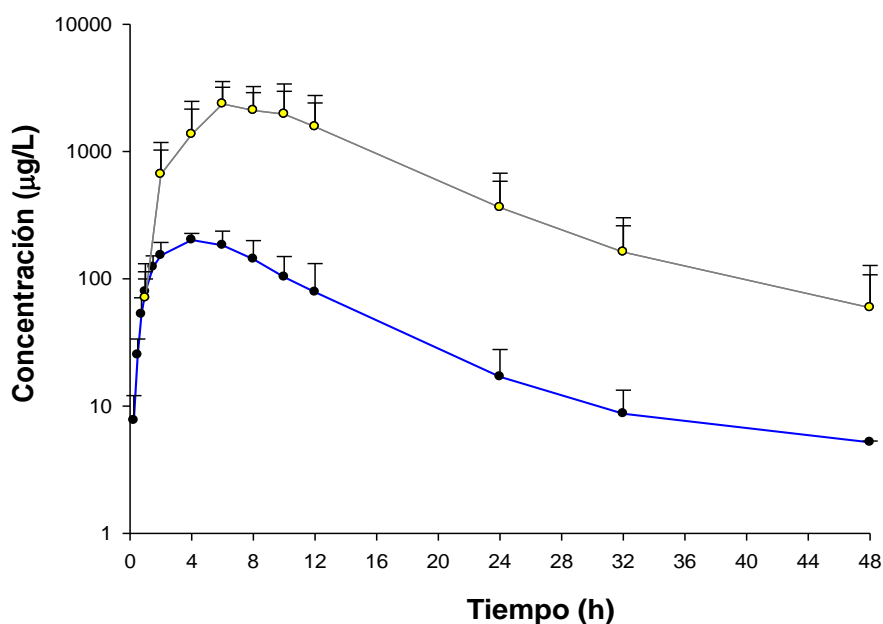


Gráfico 35.- MEDIA CIPROFLOXACINO SC-PLASMA-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino en plasma (línea azul) y en leche (línea gris) tras la administración de una dosis de 5 mg/kg vía subcutánea (SC) de enrofloxacino en ovejas.

En el Gráfico 35 se representan, en escala semilogarítmica, las concentraciones promediadas de ciprofloxacino (media \pm SD) detectadas en plasma y en leche, tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino. En el gráfico 36 se representan sus respectivos valores individuales.

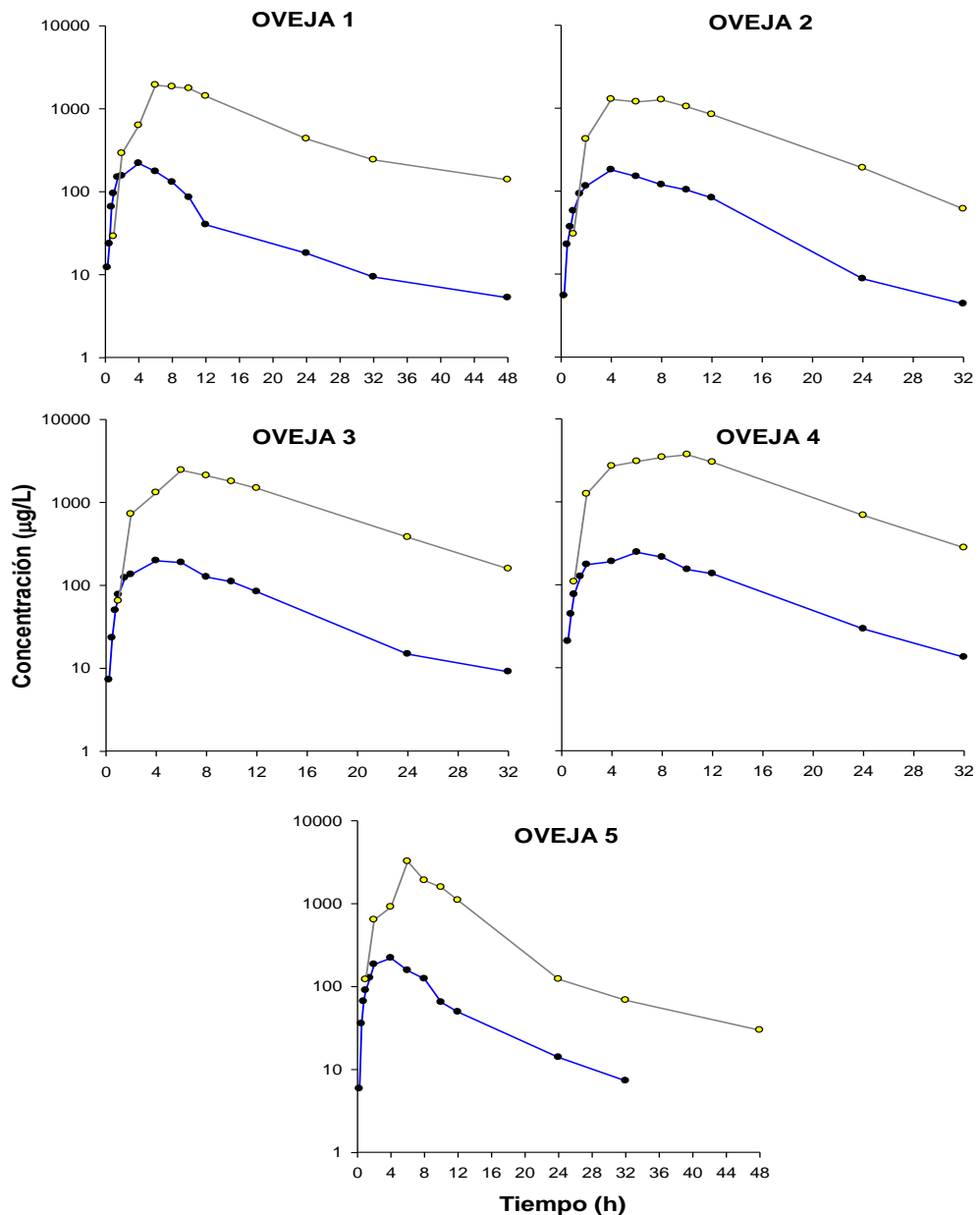


Gráfico 36.-CIPROFLOXACINO SC-PLASMA-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales para cada animal, deciprofloxacino obtenidas en plasma (línea azul) y en leche (línea gris) tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin vía subcutánea.

En los Gráficos 35 y 36 puede observarse como las concentraciones en leche de ciprofloxacino son superiores a las plasmáticas a partir de las 2-4 horas, y se mantienen durante un periodo de tiempo 25 - 48 horas.

4.15.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE ENROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE 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 49. Los gráficos 37 y 38 representan, en escala semilogarítmica, las concentraciones determinadas en leche para cada oveja, y el valor promedio calculado (\pm S.D.) respectivamente.

Concentración excretada en leche para los animales sometidos a estudio (ovejas)								
TIEMPO	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	333,52	808,04	583,76	398,77	143,51	453,52	253,06	55,80
2	903,64	1658,16	1252,81	1179,21	1074,74	1213,72	280,94	23,15
4	1471,52	2205,33	1786,84	2103,12	2601,84	2033,73	428,38	21,06
6	1729,58	3138,80	2324,51	2506,42	3771,40	2694,14	784,29	29,11
8	1871,28	4319,81	2543,62	2871,36	3738,89	3068,99	969,91	31,60
10	2108,86	4685,70	2565,45	2904,23	3535,53	3159,95	999,07	31,62
12	1835,35	4744,87	2288,13	2819,77	2575,92	2852,81	1119,35	39,24
24	585,29	1182,26	286,22	692,65	1041,82	757,65	359,59	47,46
32	204,15	595,51	95,81	497,15	753,43	429,21	273,49	63,72
48	118,60	195,03	63,06	223,14	255,87	171,14	78,89	46,10
72	85,30	177,00	47,83	140,72	193,36	128,84	61,40	47,66
96	61,18	129,90	30,45	98,24	109,25	85,84	39,77	46,33
108	50,94	118,02	24,02	87,31	99,25	75,91	37,96	50,01
120	34,77	91,26	16,59	56,44	70,84	53,98	29,36	54,38
132	28,30	75,18	14,55	54,05	60,16	46,45	24,59	52,94

TABLA 49.- ENROFLOXACINO SC-1 LECHE Concentraciones experimentales de enrofloxacin excretadas en leche, expresadas en $\mu\text{g/L}$, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% junto con sus estadísticos de desviación.

La homogeneidad de los datos se comprueba mediante un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis), tabla 50, en el que se establecen como hipótesis nulas, que las concentraciones de fármaco no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula y rechazar la segunda.

Concentraciones en Leche para Enrofloxacino 15mg/Kg SC-P407

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

TABLA 50.- ENROFLOXACINO SC-1 LECHE: Test estadísticos de Kolmogorov-Smirnov y de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino excretadas en leche, tras la administración de una dosis subcutánea de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% a ovejas.

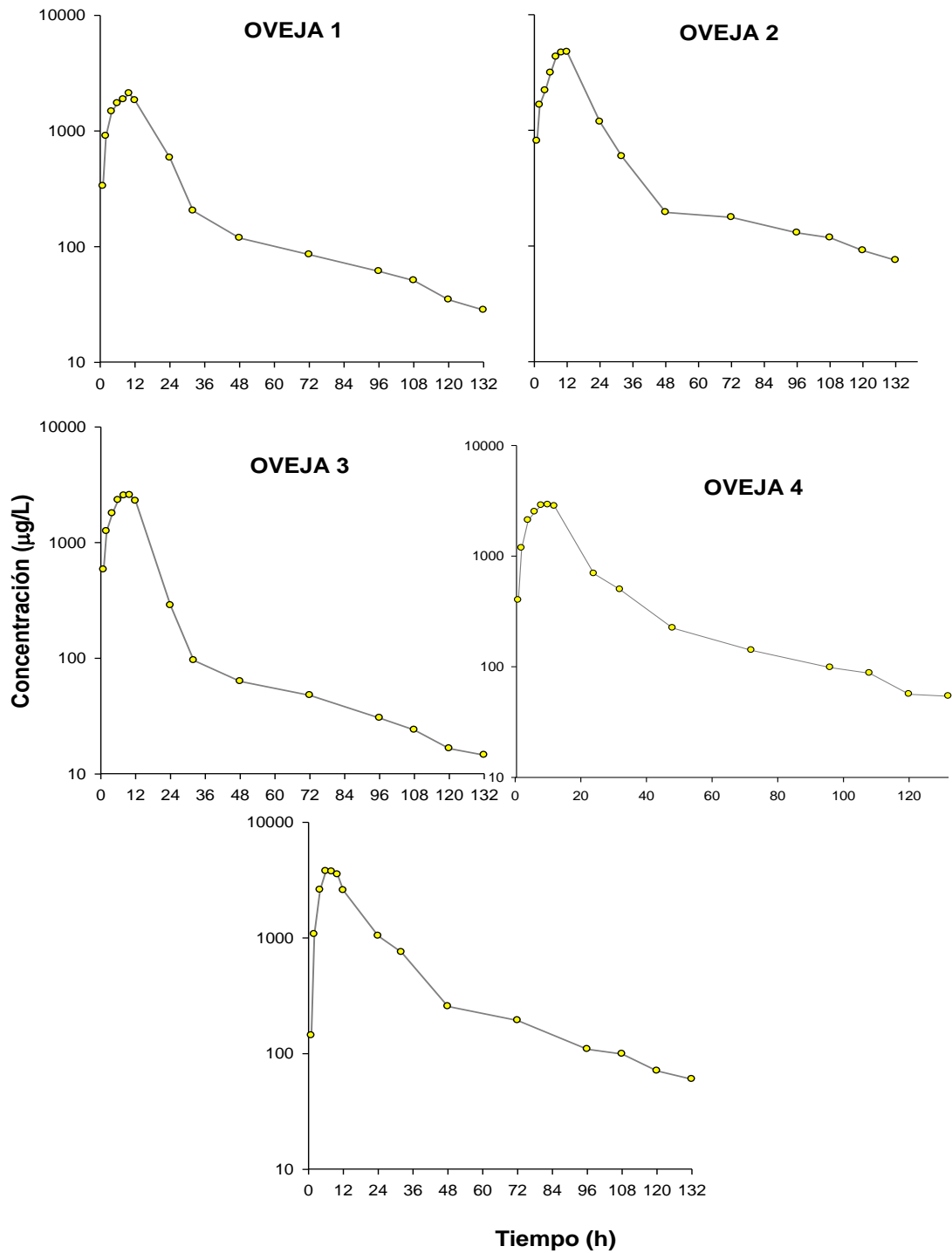


Gráfico 37.- ENROFLOXACINO SC-1 LECHE. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones detectadas en leche, para cada oveja, tras la administración subcutánea de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25%, a la dosis de 15 mg/kg.

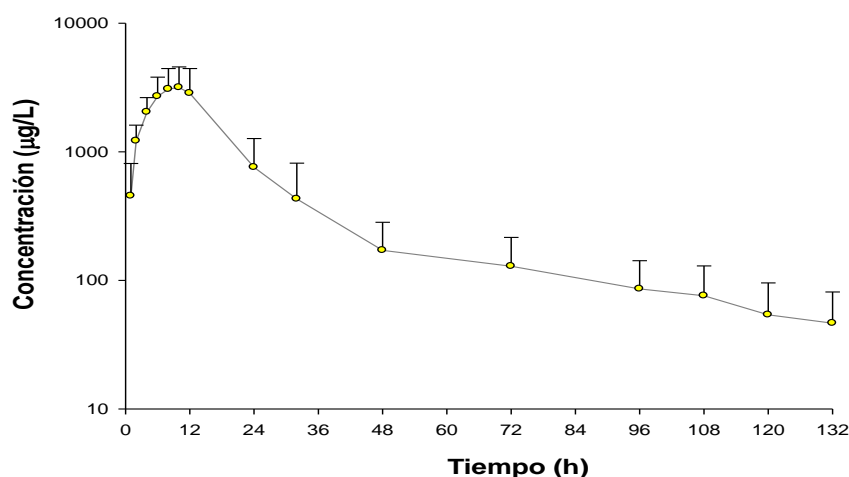


Gráfico 38.-ENROFLOXACINO SC-1-LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de Enrofloxacin excretadas en leche tras la administración de una dosis de 15 mg/kg vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) en ovejas.

En la Tabla 51, se muestran las cantidades de Enrofloxacin en microgramos, excretadas en leche para cada animal en los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración subcutánea de 15 mg/kg de peso en solución del polímero P407 al 25% junto con sus valores promedio y sus estadísticos de desviación.

Tiempo	Cantidad excretada en leche para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	78,38	92,92	110,91	53,83	23,68	71,95	34,12	47,43
2	36,14	91,20	50,11	47,17	69,86	58,89	21,77	36,97
4	117,72	176,43	134,01	105,16	780,55	262,77	290,69	110,63
6	276,73	266,80	383,54	626,61	2187,41	748,22	817,48	109,26
8	168,42	539,98	457,85	358,92	841,25	473,28	248,05	52,41
10	147,62	140,57	461,78	697,02	1590,99	607,60	597,08	98,27
12	211,07	0,00	457,63	281,98	811,41	440,52	268,11	60,86
24	321,91	1655,16	320,57	886,59	2604,55	1157,76	976,43	84,34
32	89,83	321,58	128,39	308,23	994,53	368,51	365,05	99,06
48	161,30	304,25	121,08	339,17	458,01	276,76	137,00	49,50
72	57,15	116,82	60,27	104,13	34,80	74,63	34,45	46,16
96	56,29	153,28	44,46	98,24	163,88	103,23	54,47	52,76
108	29,55	70,81	24,50	55,88	127,04	61,56	41,24	67,00
120	36,86	129,59	31,85	79,02	131,76	81,82	48,22	58,94
132	20,38	46,61	17,46	43,24	96,26	44,79	31,61	70,58

Cantidad total	1809,31	4106,00	2804,41	4085,18	10915,98	4908,92	4113,63	83,80
-----------------------	---------	---------	---------	---------	----------	----------------	---------	-------

TABLA 51.-CANTIDAD DE ENROFLOXACINO SC-1 LECHE. Cantidad de Enrofloxacinó excretada en leche, en µg, tras la administración subcutánea de una dosis de 15mg/kg en solución del polímero P407 al 25% junto con sus valores promedio y sus estadísticos de desviación.

En la tabla 52 se presentan los parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos en cada oveja, y sus promedios y estadísticos de desviación, junto con los ratios AUC_{leche}/AUC_{plasma} , $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$ y el porcentaje de excreción.

$$\% \text{ excreción} = 100 \cdot \frac{\text{cantidad excretada en leche}}{\text{Dosis} \cdot \text{Peso del animal}}$$

Parámetros	Animales sometidos a estudio (ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
C_{máx}	2108,86	4744,87	2565,45	2904,23	3771,40	3218,96	1047,86	32,55
T_{máx}	10,00	12,00	10,00	10,00	6,00	9,60	2,19	22,82
AUC_∞	44442,25	95604,49	38998,99	72739,91	86986,45	67754,42	25202,60	37,20
AUC_{24H}	31005,45	67503,83	34743,20	43939,19	51910,68	45820,47	14602,99	31,87
MRT	29,04	35,02	19,83	33,02	32,24	29,83	5,99	20,08
MIT	1,13	1,3	0,83	1,34	1,95	1,31	0,41	31,32
AUC_{leche}/AUC_{plasma}	0,57	0,87	0,59	1,01	1,51	0,91	0,38	41,98
C_{máx-leche}/C_{máx-plasma}	0,62	0,83	0,82	0,80	0,96	0,81	0,12	14,96
% excreción	0,14	0,32	0,24	0,32	0,75	0,36	0,23	65,77

TABLA 52.- ENROFLOXACINO SC-1 LECHE. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales, obtenidos para la leche, deducidos tras la administración subcutánea de Enrofloxacinó en solución del polímero P407 al 25%, a dosis de 15 mg/kg, a cada una de las ovejas junto con sus estadísticos de desviación.

En el Gráfico 39 se representa, en escala semilogarítmica, las concentraciones experimentales detectadas en plasma y en leche, para cada oveja, tras la administración subcutánea de enrofloxacinó en solución del polímero P407 al 25%, a la dosis de 15 mg/kg. En el gráfico 40 se representan sus respectivos valores promediados (media ± SD). El análisis visual de estas curvas revela que, los niveles en leche, son inferiores a los plasmáticos desde las 2

horas hasta las 30 horas, siendo superiores a los valores plasmáticos desde las 30 hasta las 48 horas.

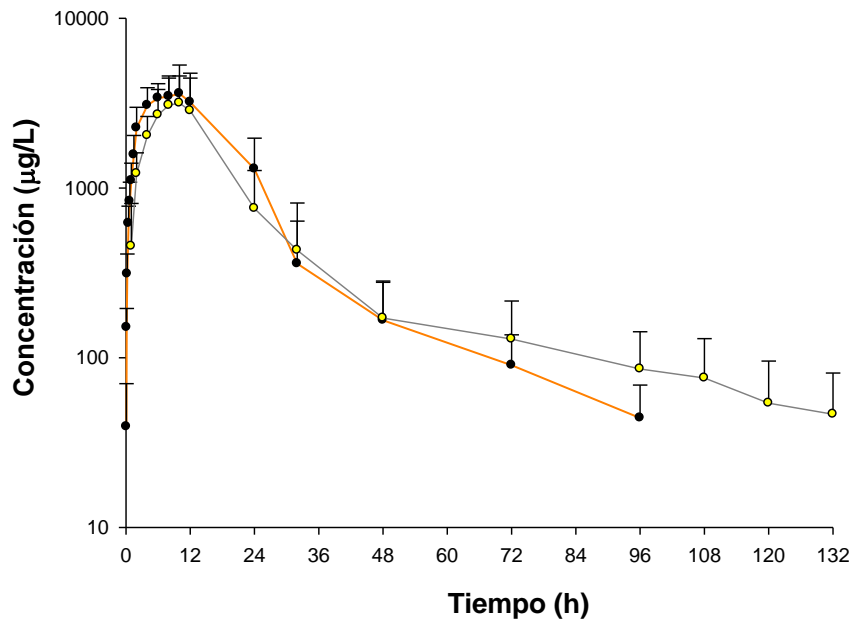


Gráfico 39.- MEDIA DEL ENROFLOXACINO SC-1 LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacino obtenidas en plasma (*línea naranja*), y en leche (*línea gris*), tras la administración subcutánea de 15mg/kg de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% a ovejas.

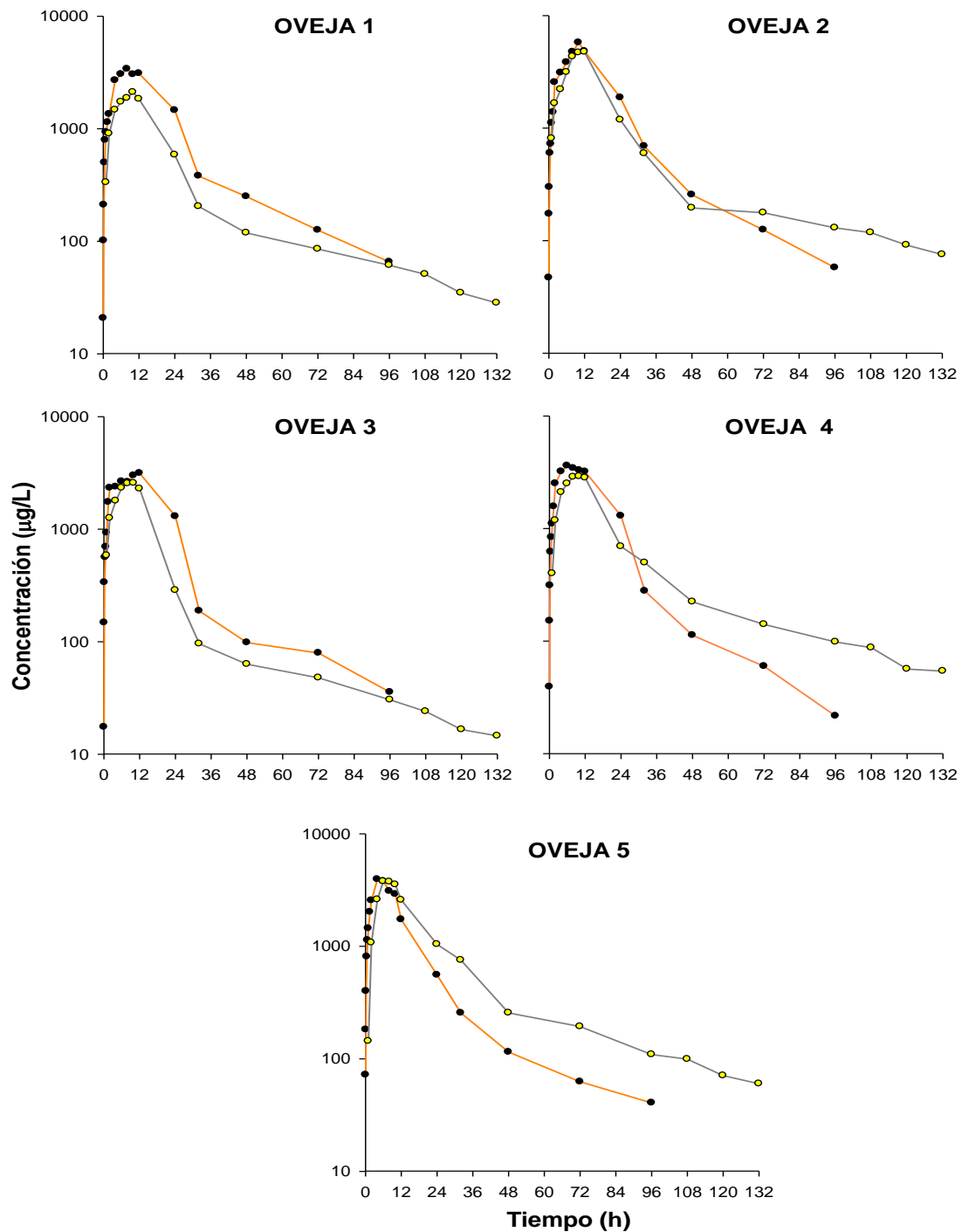


Gráfico 40.- ENROFLOXACINO SC-1 LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales en cada animal (\pm SD) de enrofloxacin obtenidas en plasma (*línea naranja*), y en leche (*línea gris*), tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% a ovejas.

4.16.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE CIPROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25%.

Las concentraciones experimentales de ciprofloxacino, 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 53. Los gráficos 40 y 41 representan, en escala semilogarítmica, las concentraciones determinadas en leche para cada oveja, y el valor promedio calculado (\pm S.D.) respectivamente.

Concentración excretada en leche para los animales sometidos a estudio (ovejas)								
TIEMPO	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	43,40	58,56	187,90	119,85	52,05	92,35	61,34	66,41
2	257,22	313,11	1206,39	871,27	1375,35	804,67	508,14	63,15
4	885,26	1115,07	3067,65	2497,54	4540,62	2421,23	1498,40	61,89
6	1705,83	2109,65	4663,10	4824,32	8467,88	4354,16	2726,08	62,61
8	1958,31	2740,76	5833,31	5142,66	9223,00	4979,61	2868,03	57,60
10	2004,07	3267,76	5796,02	5216,14	9307,26	5118,25	2790,13	54,51
12	2168,18	3864,71	5657,16	4207,96	6426,70	4464,94	1656,15	37,09
24	1215,07	2363,40	1757,11	1969,32	3228,67	2106,71	751,80	35,69
32	674,86	1350,67	648,56	1430,70	2936,76	1408,31	929,40	65,99
48	220,21	367,62	166,42	404,07	790,58	389,78	244,94	62,84
72	136,80	256,73	109,98	289,35	581,11	274,79	187,47	68,22
96	98,15	167,88	92,31	184,10	343,20	177,13	101,42	57,26
108	89,16	160,69	80,48	163,82	274,72	153,77	77,98	50,71
120	72,69	124,72	70,69	117,58	221,90	121,64	61,38	50,52
132	65,70	117,93	60,39	99,32	177,52	104,17	47,41	45,51

TABLA 53.- CIPROFLOXACINO SC-1 LECHE.Concentraciones experimentales de ciprofloxacino excretadas en leche, expresadas en $\mu\text{g/L}$, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% junto con sus estadísticos de desviación.

La homogeneidad de los datos se comprueba mediante un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis), tabla 54, en el que se establecen como hipótesis nulas, que las concentraciones de fármaco no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula y rechazar la segunda.

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

TABLA 54.- CIPROFLOXACINO SC-1 LECHE. Test estadísticos de Kolmogorov-Smirnov y de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino como metabolito de enrofloxacino, excretadas en leche, tras la administración de una dosis subcutánea de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% a ovejas de enrofloxacino.

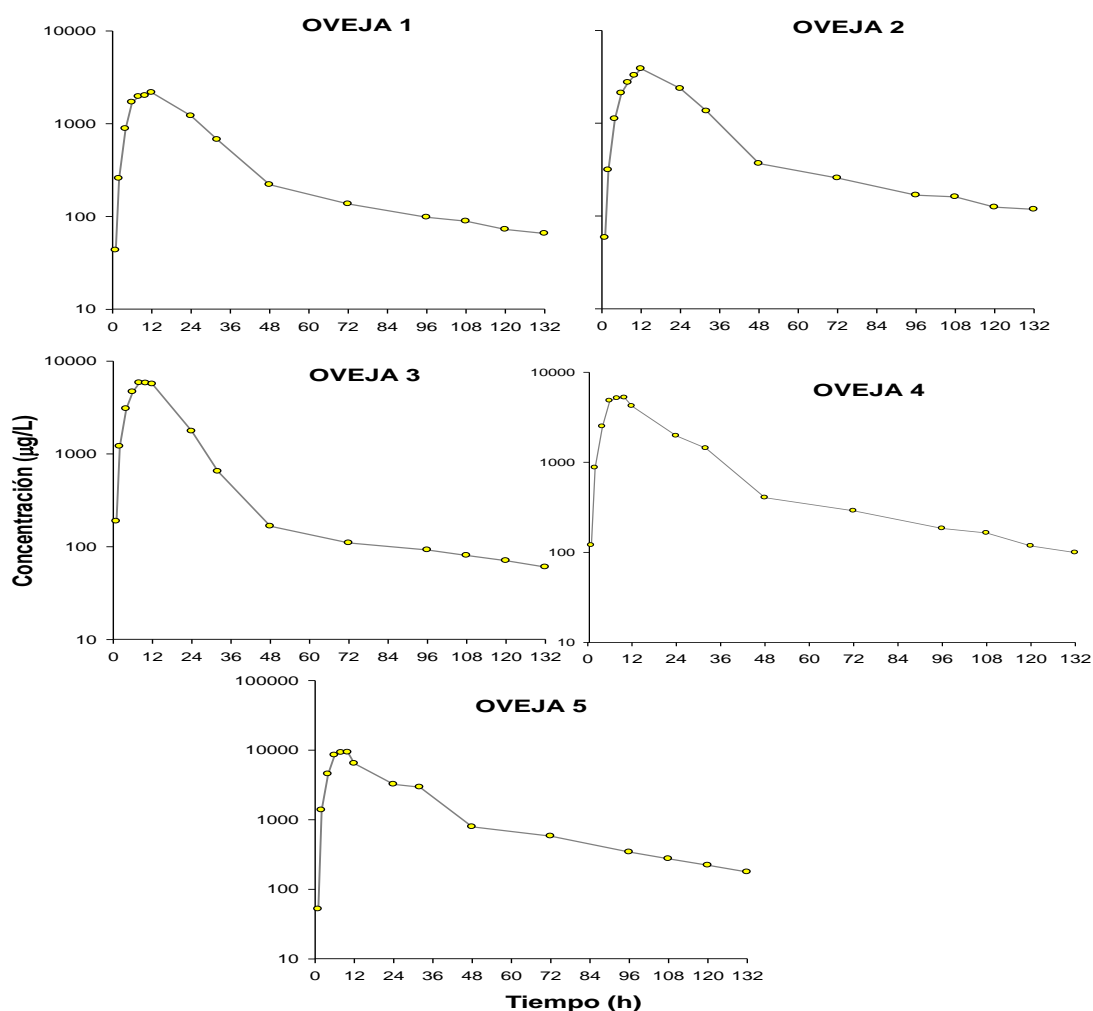


Gráfico 41.- CIPROFLOXACINO SC-1 LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones detectadas en leche, para cada oveja, de ciprofloxacino como metabolito de enrofloxacino

obtenido tras la administración subcutánea de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25%, a la dosis de 15 mg/kg.

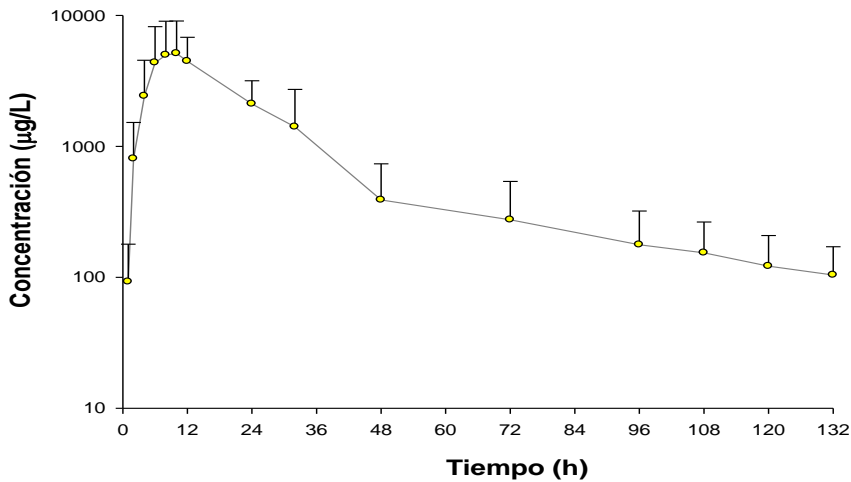


Gráfico 42.- CIPROFLOXACINO SC-1 LECHE: Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino excretadas en leche tras la administración de una dosis de 15 mg/kg vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) en ovejas.

En la Tabla 55, se muestran las cantidades de ciprofloxacino en microgramos, excretadas en leche para cada animal en los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración subcutánea de 15 mg/kg de peso en solución del polímero P407 al 25% de enrofloxacin junto con sus valores promedio y sus estadísticos de desviación.

Tiempo	Cantidad excretada en leche para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	10,20	6,73	35,70	16,18	8,59	15,48	11,85	76,52
2	10,29	17,22	48,26	34,85	89,40	40,00	31,37	78,42
4	70,82	89,21	230,07	124,88	1362,19	375,43	555,05	147,84
6	272,93	179,32	769,41	1206,08	4911,37	1467,82	1968,65	134,12
8	176,25	342,60	1050,00	642,83	2075,18	857,37	757,48	88,35
10	140,28	98,03	1043,28	1251,87	4188,27	1344,35	1672,58	124,42
12	249,34	-	1131,43	420,80	2024,41	765,20	820,06	107,17
24	668,29	3308,76	1967,96	2520,73	8071,68	3307,48	2831,79	85,62
32	296,94	729,36	869,07	887,03	3876,52	1331,79	1442,34	108,30
48	299,49	573,49	319,53	614,19	1415,14	644,36	454,01	70,46
72	91,66	169,44	138,57	214,12	104,60	143,68	49,71	34,60
96	90,30	198,10	134,77	184,10	514,80	224,41	167,83	74,78
108	51,71	96,41	82,09	104,84	351,64	137,34	121,49	88,46

120	77,05	177,10	135,72	164,61	412,73	193,44	128,52	66,44
132	47,30	73,12	72,47	79,46	284,03	111,28	97,35	87,49
Cantidad total	2552,85	6058,89	8028,34	8466,57	29690,54	10959,44	10727,84	-

TABLA 55.- CANTIDAD CIPROFLOXACINO SC-1 LECHE- Cantidad de ciprofloxacino excretada en leche, en µg, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% de enrofloxacinoyunto con sus valores promedio y sus estadísticos de desviación.

En la tabla 56 se presentan los parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos en cada oveja para el ciprofloxacino como metabolito, y sus promedios y estadísticos de desviación, junto con los ratios AUC_{leche}/AUC_{plasma} , $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$ y el porcentaje de excreción.

$$\% \text{ excreción} = 100 \cdot \frac{\text{cantidad excretada en leche}}{\text{Dosis} \cdot \text{Peso del animal}}$$

Parámetros	Animales sometidos a estudio (ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
$C_{m\acute{a}x}$	2168,18	3864,71	5833,31	5216,14	9307,26	5277,92	2655,91	50,32
$T_{m\acute{a}x}$	12,00	12,00	8,00	10,00	10,00	10,40	1,67	16,09
AUC_{∞}	62640,07	106415,09	103745,91	134400,52	235636,60	128567,64	29559,99	12,54
AUC_{24H}	35454,98	59492,71	86400,32	76339,99	127189,82	76975,56	34059,91	44,25
MRT	43,34	44,61	29,74	34,43	35,17	37,46	6,31	16,86
MIT	3,06	3,58	2,04	2,33	3,40	2,88	0,67	23,28
AUC_{leche}/AUC_{plasma}	13,89	10,29	13,88	17,23	24,25	15,91	5,27	33,13
$C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$	8,94	12,01	14,87	10,76	29,22	15,16	8,15	53,76
% excreción	0,20	0,47	0,70	0,67	2,05	0,85	0,72	84,18

TABLA 56.- CIPROFLOXACINO SC-1 LECHE. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales, obtenidos para la excreción de ciprofloxacino en la leche, deducidos tras la administración subcutánea de enrofloxacinoyunto con sus estadísticos de desviación.

En el Gráfico 43 se representa, en escala semilogarítmica, las concentraciones experimentales detectadas de ciprofloxacino en plasma y en leche, para cada oveja, tras la administración subcutánea de enrofloxacinoyunto con sus estadísticos de desviación.

15 mg/kg. En el gráfico 44 se representan sus respectivos valores promediados (media \pm SD). El análisis visual de estas curvas revela que, los niveles en leche, son superiores a los plasmáticos desde las 2 horas hasta las 48 horas.

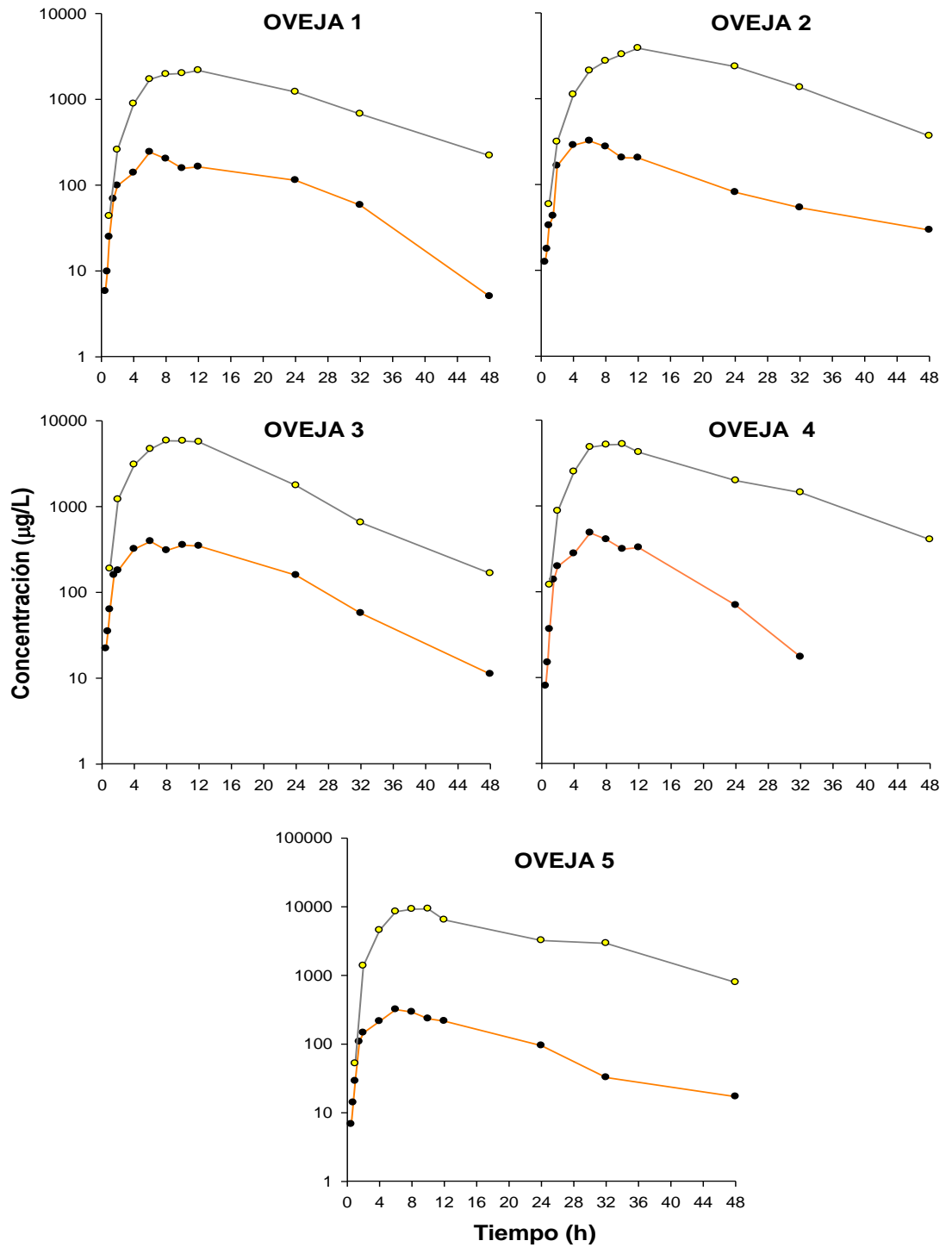


Gráfico 43.- CIPROFLOXACINO SC-1 LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino obtenidas en plasma (*línea naranja*), y en leche (*línea gris*), tras la administración subcutánea de 15 mg/kg de ciprofloxacino en solución del polímero P407 al 25% a ovejas.

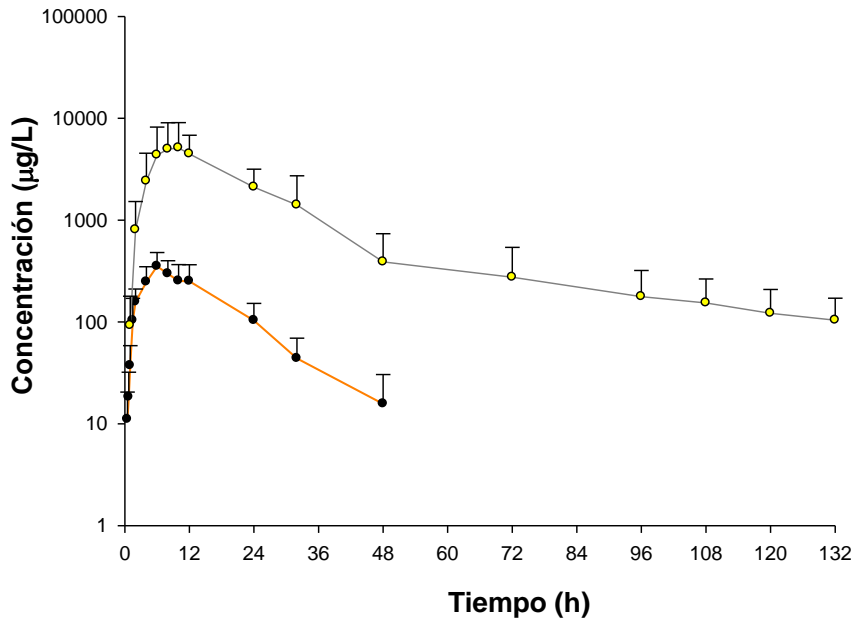


Gráfico 44.- CIPROFLOXACINO SC-1 LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino obtenidas en plasma (*línea naranja*), y en leche (*línea gris*), tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% a ovejas.

4.17.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE ENROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2%.

En la Tabla 57, 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% junto con sus estadísticos de

desviación. Las cantidades de enrofloxacino excretadas en leche se muestran en la tabla 59 y los gráficos 45 y 46 muestran la representación de las concentraciones de enrofloxacino en leche a lo largo del tiempo, así como la concentración media (gráfico 4)

Concentración excretada en leche para los animales sometidos a estudio (ovejas)								
TIEMPO	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	173,20	1312,47	340,83	511,71	698,12	607,27	439,92	72,44
2	504,15	2278,28	1086,55	1700,77	1685,51	1451,03	676,59	46,63
4	778,09	2176,76	2124,28	2334,80	2194,30	1921,64	643,99	33,51
6	1371,20	1829,73	2863,89	2731,28	1025,27	1964,28	813,82	41,43
8	1257,59	1411,06	2115,47	2695,11	1194,00	1734,65	650,40	37,49
10	1196,38	1559,54	1732,44	2578,25	776,97	1568,72	672,97	42,90
12	1100,78	100,77	1311,12	1879,23	656,27	1189,63	452,31	38,02
24	687,45	127,9	209,48	488,76	272,44	357,21	228,01	63,83
32	491,54	100,72	145,87	258,09	132,48	225,74	160,00	70,88
48	155,81	75,5	91,33	208,9	57,36	117,78	63,02	53,51
72	118,52	63,24	60,84	148,75	39,21	86,11	45,65	53,01
96	87,5	45,36	41,96	115,46	18,76	61,81	38,91	62,95
108	75,32	30,81	33,62	94,85	14,25	49,77	33,79	67,89
120	62,6	23,64	26,65	73,46	0	46,59	30,16	64,74

TABLA 57.- ENROFLOXACINO SC-2 LECHE. Concentraciones experimentales de enrofloxacino excretadas en leche, expresadas en $\mu\text{g/L}$, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% junto con sus estadísticos de desviación.

La homogeneidad de los datos se comprueba mediante un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis), tabla 58, en el que se establecen como hipótesis nulas, que las concentraciones de fármaco no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula y rechazar la segunda.

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

TABLA 58.- ENROFLOXACINO SC-2 LECHE. Test estadísticos de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino excretadas en leche, tras la administración de una dosis subcutánea de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% a ovejas.

Los gráficos 43 y 44 representan, en escala semilogarítmica, las concentraciones determinadas en leche para cada oveja, y el valor promedio calculado (\pm S.D.) respectivamente.

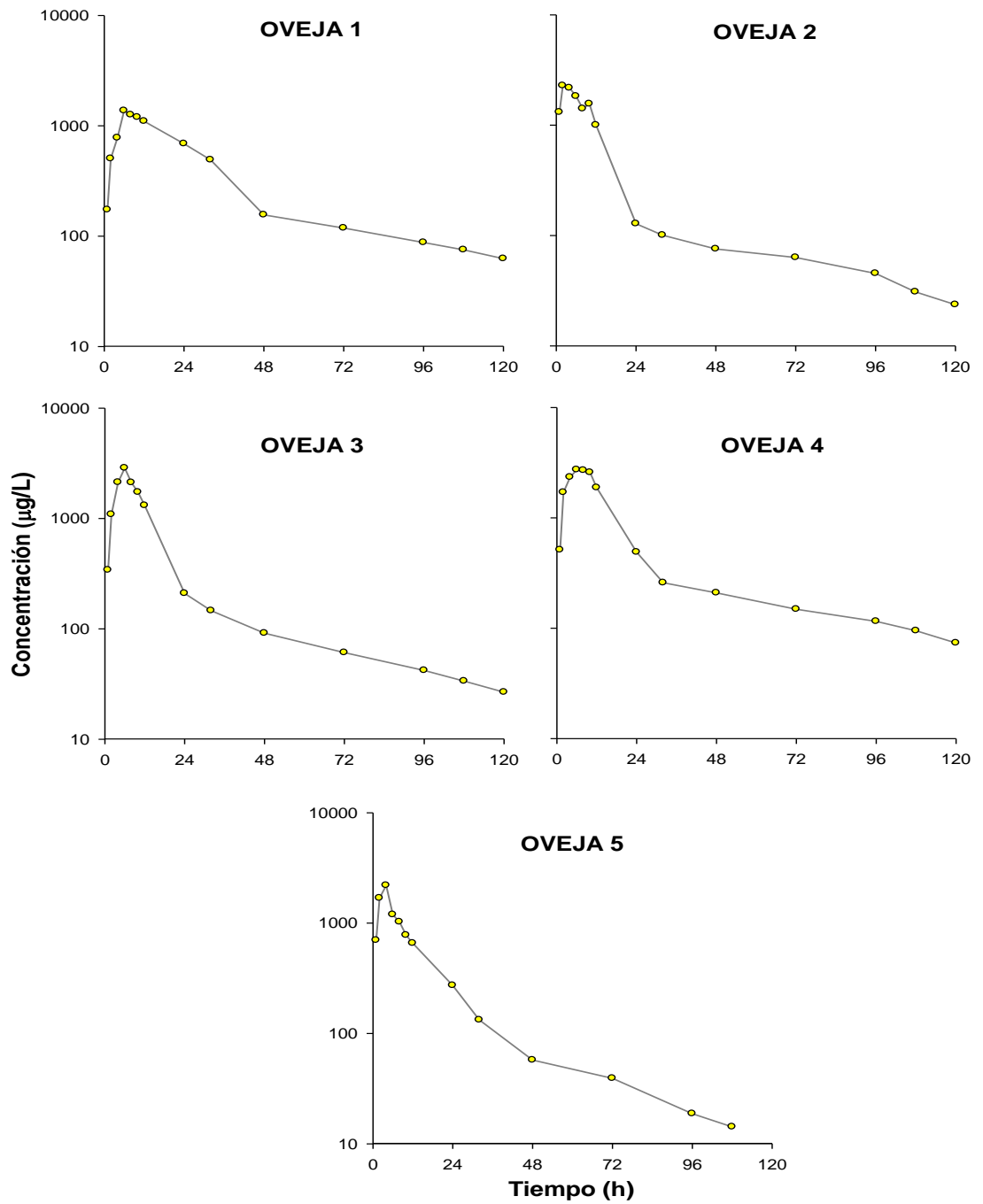


Gráfico 45.- ENROFLOXACINO SC-2 LECHE. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones detectadas en leche, para cada oveja, tras la administración subcutánea de 15mg/kg de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%.

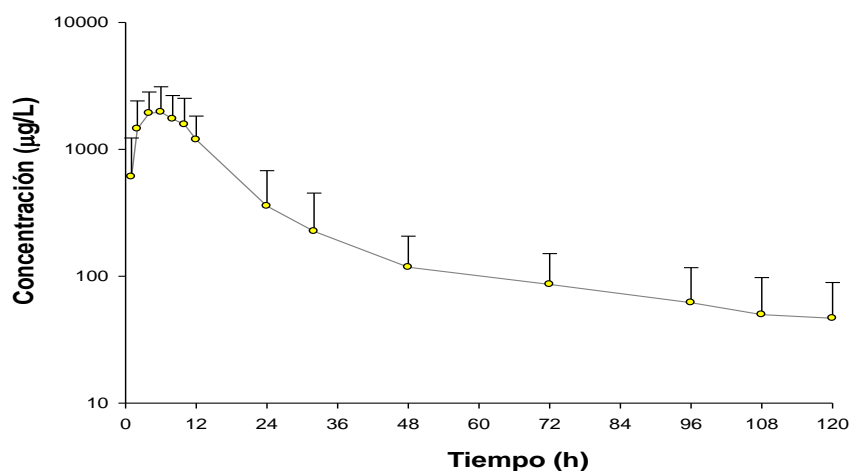


Gráfico 46.- MEDIA ENROFLOXACINO SC-2 LECHE Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacin excretadas en leche tras la administración de una dosis de 15 mg/kg vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) en ovejas.

En la Tabla 59, se muestran las cantidades de enrofloxacin en microgramos, excretadas en leche para cada animal en los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración subcutánea de 15 mg/kg de peso en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% junto con sus estadísticos de desviación.

Tiempo	Cantidad excretada en leche para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	31,18	111,56	66,46	104,90	178,02	98,42	54,99	55,87
2	12,60	68,35	92,36	153,06	101,13	85,50	51,15	59,82
4	38,90	152,37	233,67	326,87	438,86	238,14	154,30	64,79
6	253,67	173,82	35799	846,70	451,12	416,66	262,25	62,94
8	94,32	112,88	317,32	498,59	358,20	276,26	171,48	62,07
10	89,73	140,36	320,50	528,54	97,12	235,25	188,78	80,25
12	121,09	75,06	163,89	263,09	82,03	141,03	76,90	54,52
24	515,59	58,19	188,53	769,80	396,40	385,70	278,68	72,25
32	147,46	30,22	72,94	232,28	148,38	126,25	77,86	61,67
48	174,51	75,50	129,69	334,24	110,13	164,81	101,24	61,43
72	78,22	31,62	45,02	199,33	57,25	82,29	67,63	82,19
96	78,75	30,84	46,16	166,26	30,02	70,41	57,10	81,10
108	40,67	12,94	22,19	100,54	15,68	38,40	36,38	94,73
120	112,68	22,22	34,65	130,76	0,00	60,06	57,99	96,55

Cantidad total	1789,37	1095,94	2091,35	4654,96	2464,33	2419,19	1346,83	55,67
-----------------------	---------	---------	---------	---------	---------	----------------	---------	-------

TABLA 59.-CANTIDAD ENROFLOXACINO SC-2 LECHE. Cantidad de enrofloxacin excretada en leche, en μg , en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% junto con sus valores promedio y sus estadísticos de desviación.

En la tabla 60 se presentan los parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos en cada oveja, y sus promedios y estadísticos de desviación, junto con los ratios $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$, $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$ y el porcentaje de excreción.

Parámetros	Animales sometidos a estudio (ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
$C_{\text{máx}}$	1371,20	1959,04	2863,9	2731,27	2194,29	2231,36	698,58	31,31
$T_{\text{máx}}$	6,00	10,00	6,00	6,00	4,00	7,00	2,00	28,57
AUC_{∞}	43182,03	36648,27	38004,43	63020,94	25848,88	45213,92	12200,62	26,98
$AUC_{24\text{H}}$	21768,34	24706,48	28086,80	37974,39	19318,52	28134,00	7049,94	25,06
MRT	48,86	28,90	25,54	41,56	19,47	36,22	10,89	30,08
MIT	1,54	0,16	1,01	0,95	0,52	0,91	0,57	62,29
$AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$	0,52	0,59	0,47	0,67	0,38	0,56	0,09	15,89
$C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$	0,25	0,53	0,52	0,47	0,56	0,44	0,13	29,57
% excreción	0,17	0,12	0,17	0,38	0,14	0,19	0,10	53,57

TABLA 60.- ENROFLOXACINO SC-2 LECHE. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales, obtenidos para la leche, deducidos tras la administración subcutánea de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, a dosis de 15 mg/kg, a cada una de las ovejas junto con sus valores promedio y sus estadísticos de desviación.

En el Gráfico 47 se representa, en escala semilogarítmica, las concentraciones experimentales detectadas en plasma y en leche, para cada oveja, tras la administración

subcutánea de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25%, a la dosis de 15 mg/kg. En el gráfico 48 se representan sus respectivos valores promediados (media \pm D).

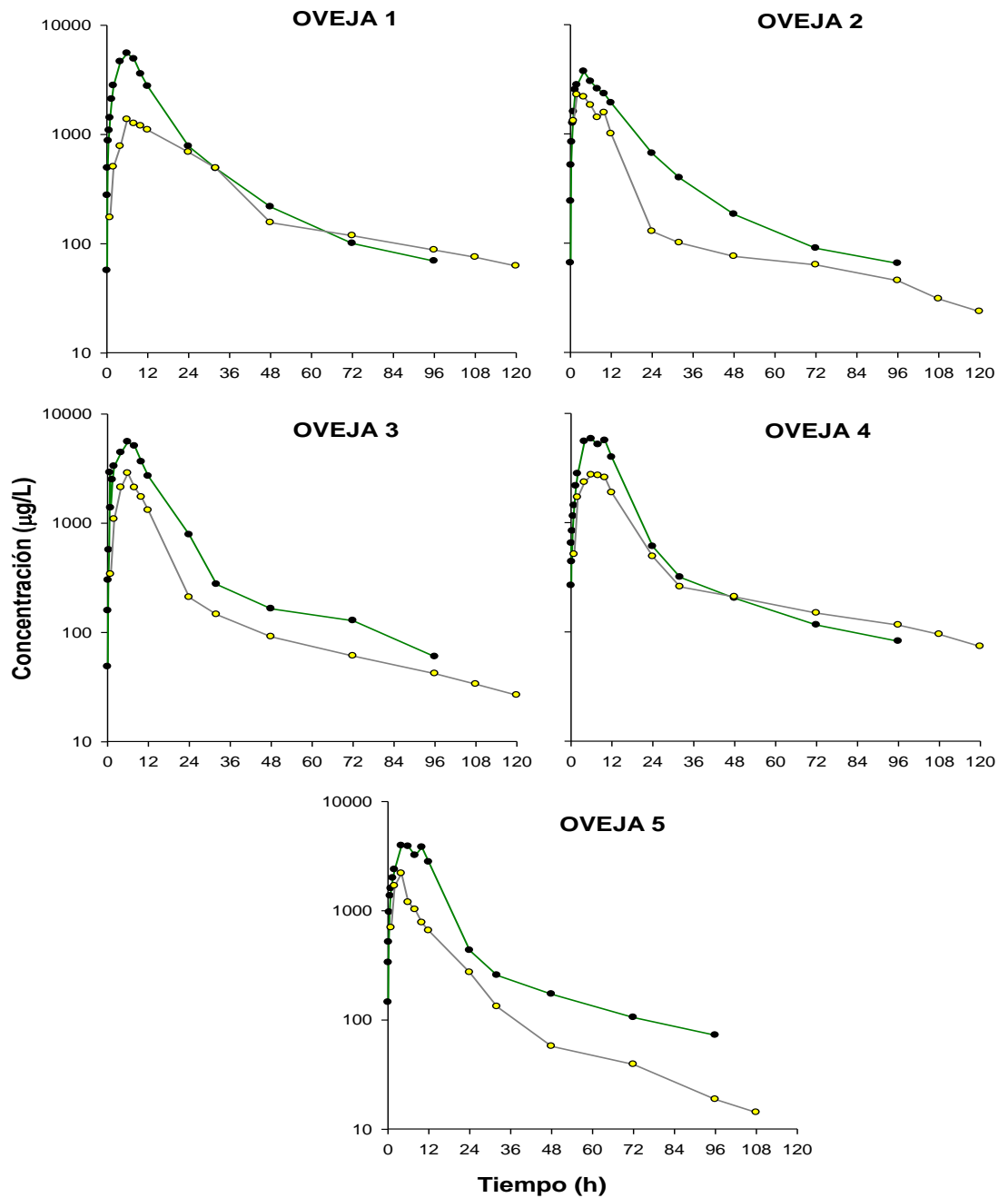


Gráfico 47.-ENROFLOXACINO SC-2 LECHE. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales (\pm SD) de enrofloxacino obtenidas en plasma (*línea verde*), y

en leche (*línea gris*) para cada oveja, tras la administración subcutánea de 15mg/kg de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% a cada animal.

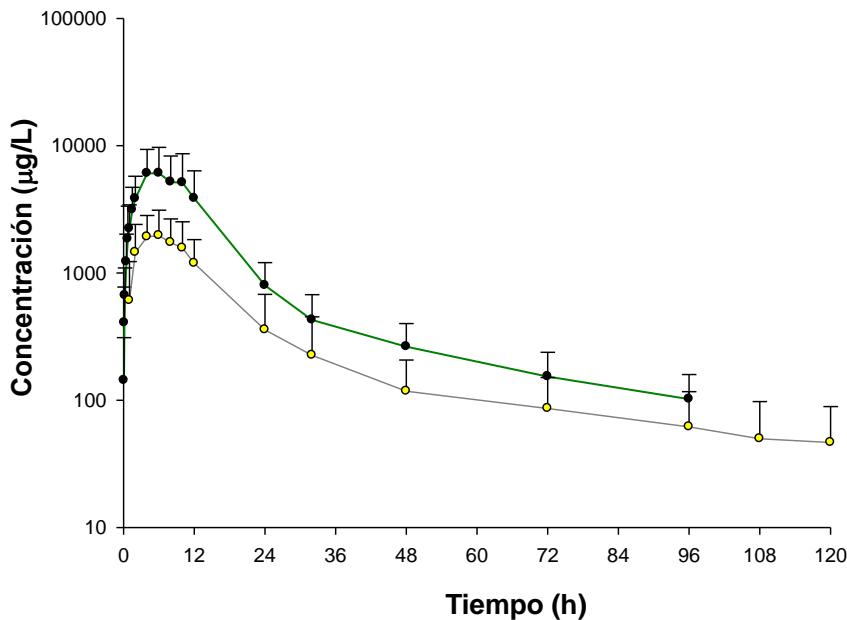


Gráfico 48.-ENROFLOXACINO SC-2 LECHE. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacino obtenidas en plasma (*línea verde*), y en leche (*línea gris*), tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% a ovejas.

Como podemos observar en el Gráfico 45, las concentraciones en leche de enrofloxacino son inferiores a las plasmáticas y se mantienen así a lo largo del tiempo excepto en los últimos intervalos de tiempo, a partir de las 96h. La tendencia general, observada en el gráfico 46 de los valores promediados, indica que los niveles en leche son inferiores a los plasmáticos desde las 2 horas hasta las 96 horas. En la oveja 1 se observan en las primeras horas una concentración de leche similar a la plasmática e incluso superior de las 24-36horas.

4.18.- EXCRECIÓN A TRAVÉS DE LA LECHE DE CIPROFLOXACINO: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2%.

En la Tabla 61, se muestran las concentraciones experimentales de ciprofloxacino, 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% junto con sus estadísticos de desviación

Concentración excretada en leche para los animales sometidos a estudio (ovejas)								
TIEMPO	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	82,46	178,95	34,00	40,72	143,00	95,69	63,55	66,41
2	335,75	881,42	293,51	497,29	1415,39	684,67	469,71	68,60
4	472,62	1823,79	1884,91	854,63	2372,18	1481,63	788,04	53,19
6	1071,49	2292,44	3222,72	1928,12	3394,57	2381,87	957,02	40,18
8	1226,24	2801,77	3046,44	2274,98	3119,55	2493,80	782,05	31,36
10	1247,51	3222,72	2870,15	2377,46	2236,20	2390,81	750,51	31,39
12	1968,78	2475,97	2600,54	3056,61	1704,98	2361,38	533,54	22,59
24	1302,26	805,19	84,90	1233,93	762,44	989,74	256,91	25,96
32	726,00	386,64	411,18	886,78	450,23	572,12	222,37	38,87
48	258,00	132,38	213,71	407,57	236,76	249,71	100,28	40,16
72	183,00	86,15	154,64	352,06	182,46	191,63	97,97	51,13
96	153,41	60,13	123,99	201,13	160,14	139,76	52,34	37,45
108	134,84	38,73	96,4	174,23	136,15	116,07	51,25	44,15
120	120,74	27,92	86,89	164,79	129,66	106,00	51,71	48,78

TABLA 61.- CIPROFLOXACINO SC-2 LECHE - Concentraciones experimentales de ciprofloxacino excretadas en leche, expresadas en $\mu\text{g/L}$, en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% junto con sus estadísticos de desviación.

Los gráficos 49 y 50 representan, en escala semilogarítmica, las concentraciones determinadas en leche para cada oveja, y el valor promedio calculado (\pm S.D.) respectivamente.

La homogeneidad de los datos se comprueba mediante un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis), tabla 61, en el que se establecen como hipótesis nulas, que las concentraciones de fármaco no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula y rechazar la segunda.

Pruebas de Bondad de Ajuste para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo	Valor-P*	<0,05
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales	Valor-P*	>0,05

* Se compara con un valor de probabilidad de 0,05 para un 95% de nivel de confianza.

TABLA 61.- CIPROFLOXACINO SC-2 LECHE Test estadísticos de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino excretadas en leche, tras la administración de una dosis subcutánea de 15 mg/kg de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% a ovejas.

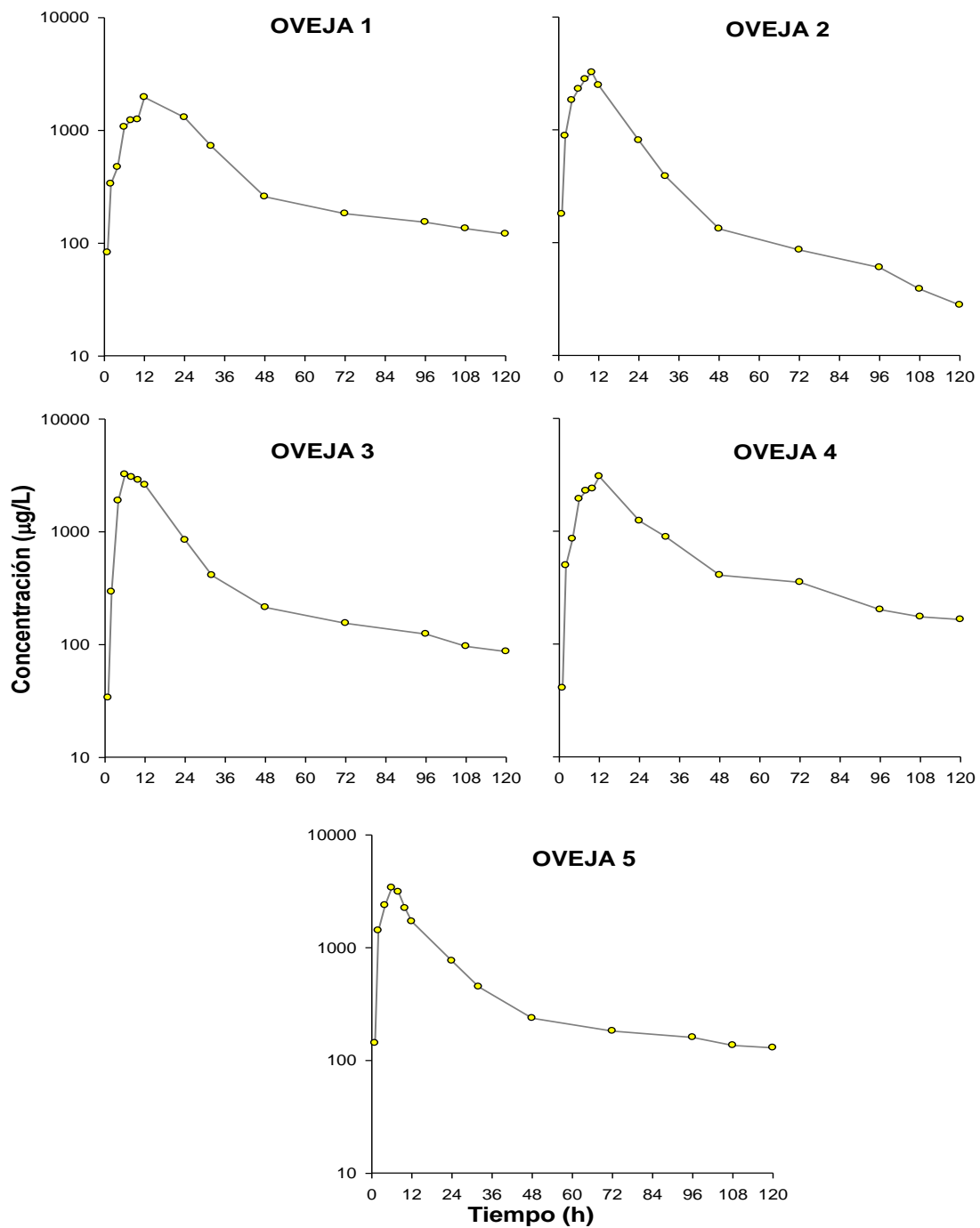


Gráfico 49.- CIPROFLOXACINO SC-2 LECHE. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones de ciprofloxacino detectadas en leche, para cada oveja, tras la administración subcutánea de 15mg/kg de enrofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%.

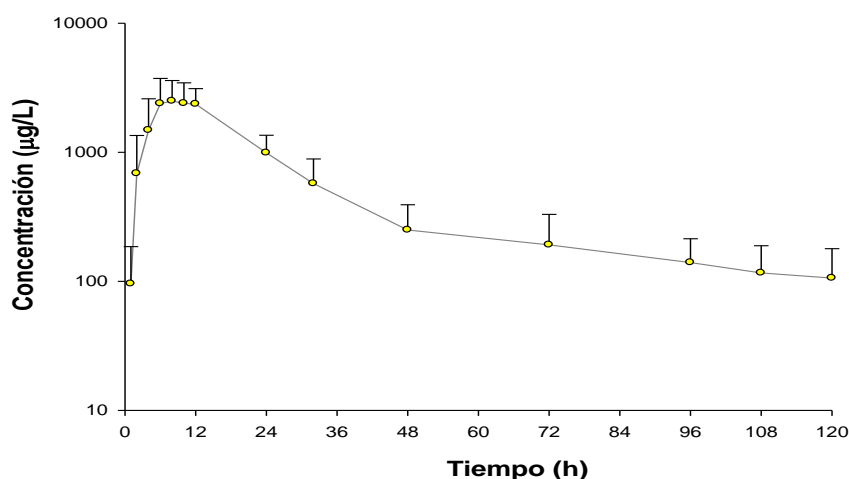


Gráfico 50.- MEDIA CIPROFLOXACINO SC-2 LECHE. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino excretadas en leche tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) en ovejas.

En la Tabla 62, se muestran las cantidades de ciprofloxacino en microgramos, excretadas en leche para cada animal en los diferentes tiempos de ordeño, tras la administración subcutánea de 15 mg/kg de peso en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% junto con sus estadísticos de desviación.

Tiempo	Cantidad excretada en leche para los animales sometidos a estudio(ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
1	14,84	15,21	6,59	8,35	36,35	16,27	11,86	72,90
2	8,39	26,44	24,95	44,76	84,92	37,89	29,27	77,25
4	23,63	127,67	207,34	119,65	474,44	190,54	171,55	90,03
6	198,23	217,78	402,84	597,72	1493,61	582,04	534,63	91,86
8	91,97	224,14	456,97	420,87	935,86	425,96	321,43	75,46
10	93,56	290,05	530,98	487,38	279,52	336,30	176,78	52,57
12	216,57	185,70	325,07	427,93	213,12	273,68	101,37	37,04

24	976,70	366,36	760,41	1943,44	1109,35	1031,25	582,37	56,47
32	217,74	115,99	205,59	798,10	504,26	368,34	281,08	76,31
48	289,13	132,38	303,47	652,11	454,58	366,33	196,28	53,58
72	12067	43,08	114,43	471,76	266,39	203,27	170,62	83,94
96	138,07	40,89	136,39	289,63	256,22	172,24	100,67	58,45
108	72,81	16,27	63,62	184,68	149,77	97,43	68,35	70,16
120	217,33	26,24	112,96	293,33	241,17	178,21	107,35	60,24
Cantidad total	2679,64	1828,19	3651,60	6739,70	6499,56	4279,74	2232,93	52,17

TABLA 62.-CANTIDAD DE CIPROFLOXACINO SC-2 LECHE. Cantidad de ciprofloxacino excretada en leche, en μg , en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% junto con sus valores promedio y sus estadísticos de desviación.

En la tabla 63 se presentan los parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos en cada oveja, y sus promedios y estadísticos de desviación, junto con los ratios $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$, $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$ y el porcentaje de excreción.

Parámetros	Animales sometidos a estudio (ovejas)							
	1	2	3	4	5	Media	S.D.	C.V.
$C_{\text{máx}}$	1302,262	3222,723	3222,723	4746,606	3394,57	3123,58	1410,80	45,17
$T_{\text{máx}}$	24,00	10,00	6,00	12,00	6,00	13,00	7,75	59,58
AUC_{∞}	60928,85	57569,95	68243,38	90872,56	74563,39	69403,69	14990,21	21,60
AUC_{24H}	29942,12	42074,20	43854,67	42825,77	39674,19	6528,96	16,46	24,53
MRT	66,61	23,88	41,88	58,33	71,46	5,61	12,59	22,64
MIT	2,656	1,824	2,85	3,20	1,56	2,63	0,59	22,26
$AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$	19,10	32,41	15,59	19,80	48,09	21,72	7,36	33,87
$C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$	7,33	25,21	12,44	19,56	26,77	16,14	7,86	48,69
% excreción	0,17	0,12	0,17	0,38	0,14	0,19	0,10	53,57

TABLA 63.- CIPROFLOXACINO SC-2 LECHE. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales, obtenidos para el ciprofloxacino en la leche, como metabolito, deducidos tras la administración subcutánea de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, a dosis de 15 mg/kg, a cada una de las ovejas junto con sus valores promedio y sus estadísticos de desviación.

En el Gráfico 51 se representa, en escala semilogarítmica, las concentraciones experimentales detectadas en plasma y en leche de ciprofloxacino, para cada oveja, como metabolito, tras la administración subcutánea de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25%, a la dosis de 15 mg/kg. En el gráfico 52 se representan sus respectivos valores promediados (media \pm D).

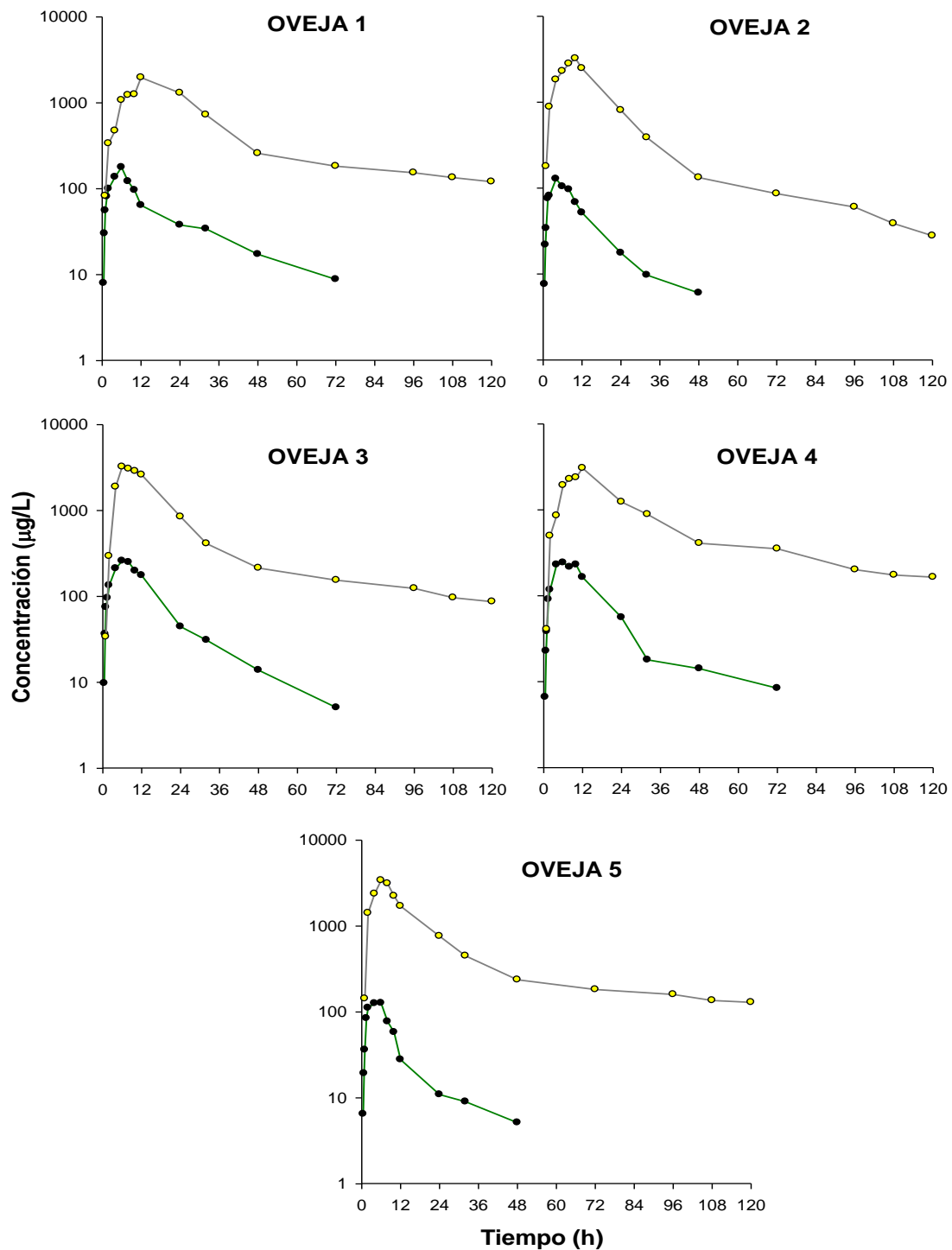


Gráfico 51.-CIPROFLOXACINO SC-2 PLASMA-LECHE. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino como metabolito, obtenidas en plasma (*línea verde*), y en leche (*línea gris*), tras la administración

subcutánea de 15mg/kg de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% a ovejas.

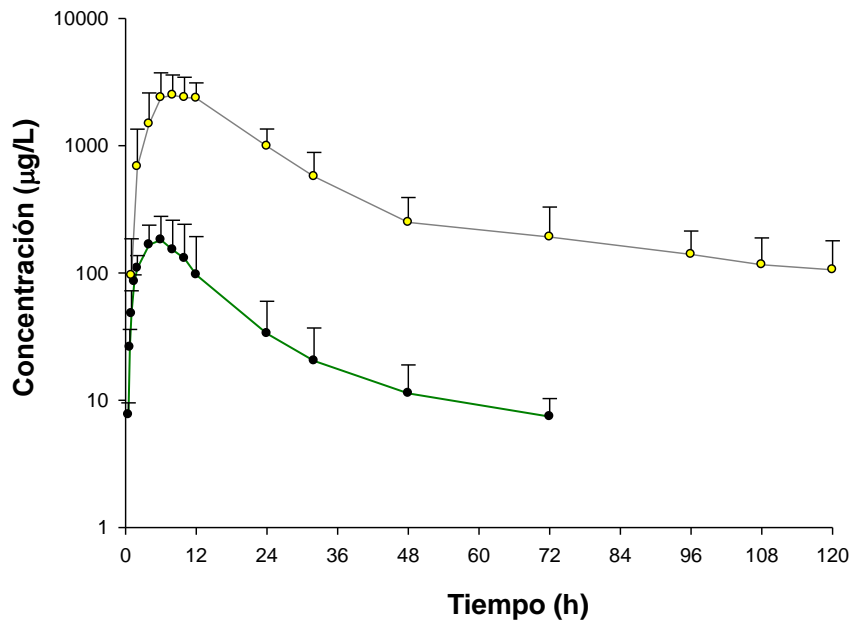


Gráfico 52.-CIPROFLOXACINO SC-2 PLASMA-LECHE. Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino como metabolito, obtenidas en plasma (*línea verde*), y en leche (*línea gris*), tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% a ovejas.

Como podemos observar en el Gráfico 49, las concentraciones en leche de ciprofloxacino son iguales o superiores a las plasmáticas desde las 2-4 horas y se mantienen así hasta las 24 horas en todas las ovejas. La tendencia general, observada en el gráfico 50 de los valores promediados, indica que los niveles en leche son superiores a los plasmáticos en todos los tiempos de extracción. En la oveja número 1 las concentraciones plasmáticas son superiores a las excretadas en la leche durante las primeras horas 2-12 horas, siendo inferiores a partir de dicho momento.

4.19.- COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ENROFLOXACINO EN LECHE TRAS SU ADMINISTRACIÓN 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 64, 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 vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2).

Parámetros	IV	SC	SC1	SC2
C_{máx}(µg/L)	10281,50	1732,17	3218,96	2231,36
T_{máx}(h)	1,00	4,00	9,60	7,00
AUC (µg*h/L)	30824,10	15251,71	67754,42	45213,92
MRT (h)	4,31	8,63	29,83	36,22
AUC_{leche}/AUC_{plasma}	1,00	0,48	0,91	0,56
C_{máx-leche}/C_{máx-plasma}	0,61	0,44	0,81	0,44
% excreción	0,84	0,27	0,36	0,21

TABLA 64.-MEDIA ENROFLOXACINO IV-SC-SC1-SC2 LECHE Valor medio de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacinó obtenidos en leche, tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y tras la administración de una dosis de 15 mg/kg por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

Para verificar la existencia de diferencias significativas entre las administraciones de enrofloxacinó vía IV, SC, SC1 y SC2, se ha realizado un estudio estadístico no paramétrico (H

de Kruskal-Wallis) entre los parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el análisis no compartimental. Los resultados de este estudio se muestran en la Tabla 65.

Parámetros	Probabilidad (significación)	Parámetros	Probabilidad (significación)
$C_{m\acute{a}x}$ ($\mu\text{g/L}$)	$P < 0,05$	$AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$	$P < 0,05$
$T_{m\acute{a}x}$ (h)	$P < 0,05$	$C_{m\acute{a}x\text{-leche}}/C_{m\acute{a}x\text{-plasma}}$	$P < 0,05$
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)	$P < 0,05$	% excreción	$P < 0,05$
MRT (h)	$P < 0,05$	-	-

$P < 0,05$: diferencias significativas; $P > 0,05$: diferencias no significativas.

TABLA 65.- Estudio comparativo no paramétrico (H Kruskal-Wallis) entre los principales parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacino en leche, obtenidos tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y tras la administración de una dosis de 15 mg/kg por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

La comparación de los parámetros y ratios en leche, en todas las vías de administración IV y SC, SC1 y SC2, para todos los animales, muestra la existencia de diferencias significativas en los valores del área bajo la curva ($AUC_{0-\infty \text{ leche}}$), de la concentración máxima en leche ($C_{m\acute{a}x}$), del tiempo en que se alcanza dicha concentración ($T_{m\acute{a}x}$), del tiempo medio de residencia (MRT) y del ratio entre las concentraciones máximas en leche y plasma ($C_{m\acute{a}x\text{-leche}}/C_{m\acute{a}x\text{-plasma}}$) y entre los valores bajo la curva entre leche y plasma ($AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$)

La representación gráfica (en escala semilogarítmica) de los valores medios (\pm SD) experimentales de concentración en leche obtenidos tras la administración de enrofloxacino por las vías IV, SC, SC1 y SC2, aparecen en el Gráfico 53, y en el Gráfico 54 los valores medios (\pm SD) de las tres administraciones subcutáneas.

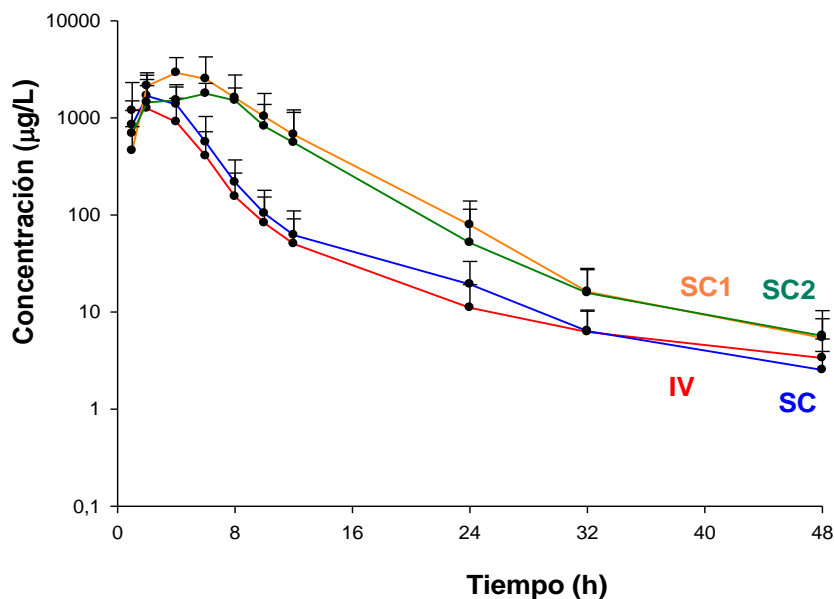


Gráfico 53.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacin obtenidas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y de una dosis de 15 mg/kg por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

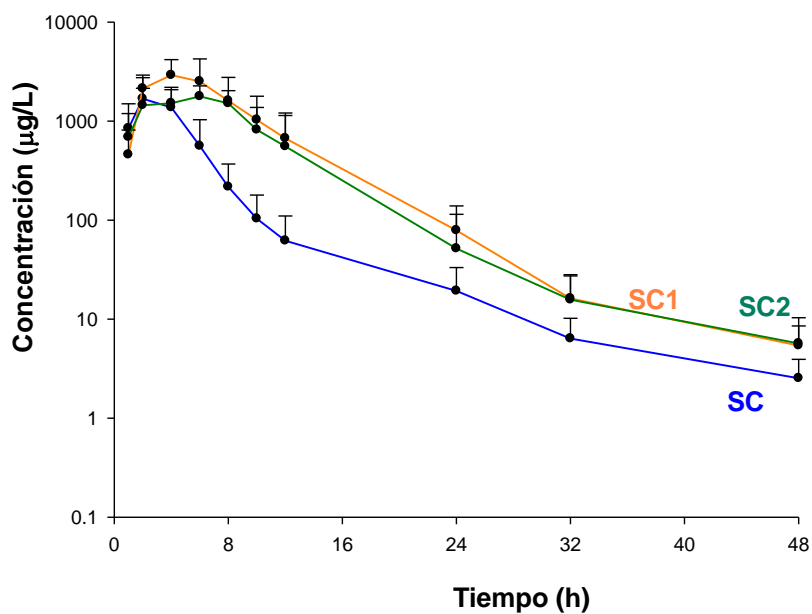


Gráfico 54.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacinó obtenidas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía subcutánea (SC), y de una dosis de 15 mg/kg por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

4.20.- COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE CIPROFLOXACINO EN LECHE TRAS SU ADMINISTRACIÓN 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 67, vienen reflejados los valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos no compartimentales, de ciprofloxacino obtenidos para la leche, tras la administración intravenosa de una dosis de 5mg/kg de enrofloxacinó vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y tras la administración de una dosis de 15 mg/kg vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2).

Parámetros	IV	SC	SC1	SC2
$C_{m\acute{a}x}(\mu\text{g/L})$	4882,08	2506,38	5277,92	3123,58
$T_{m\acute{a}x}(\text{h})$	4,40	7,20	10,40	13,00
$AUC(\mu\text{g}^*\text{h/L})$	39929,80	30740,47	128567,64	69403,69
$MRT(\text{h})$	9,15	13,13	37,46	55,61
$AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$	29,50	12,42	15,91	21,72
$C_{m\acute{a}x\text{-leche}}/C_{m\acute{a}x\text{-plasma}}$	18,69	11,52	15,16	16,14
% excreción	0,63	0,60	0,85	0,38

TABLA 67.-MEDIA CIPROFLOXACINO IV-SC-SC1-SC2 LECHE Valor medio de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ciprofloxacino obtenidos en leche, tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y tras la

administración de una dosis de 15 mg/kg por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

La representación gráfica (en escala semilogarítmica) de los valores medios (\pm SD) experimentales de concentración en leche obtenidos tras la administración de ciprofloxacino por las vías IV, SC, SC1 y SC2, aparecen en el Gráfico 55, y en el Gráfico 56 los valores medios (\pm SD) de las tres administraciones subcutáneas.

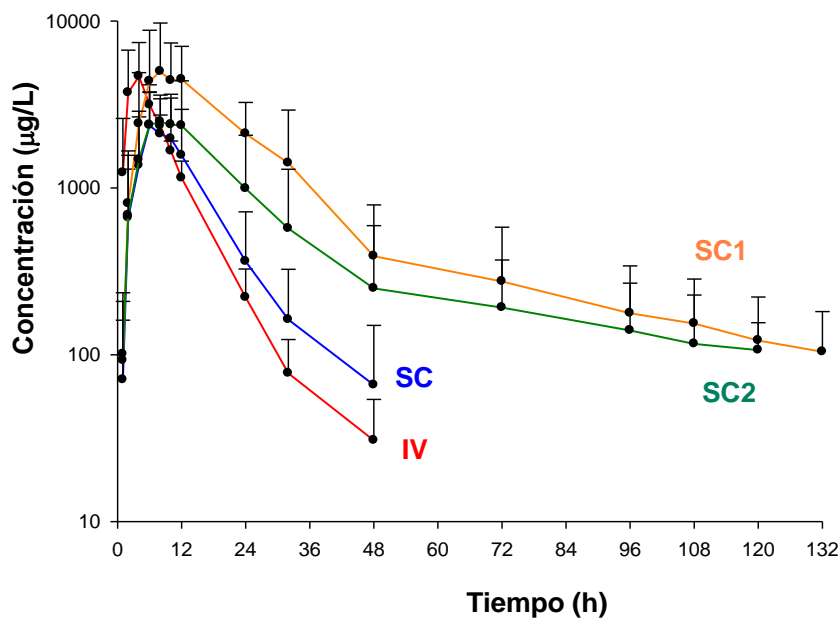


Gráfico 55.-Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino obtenidas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y de una dosis de 15 mg/kg por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

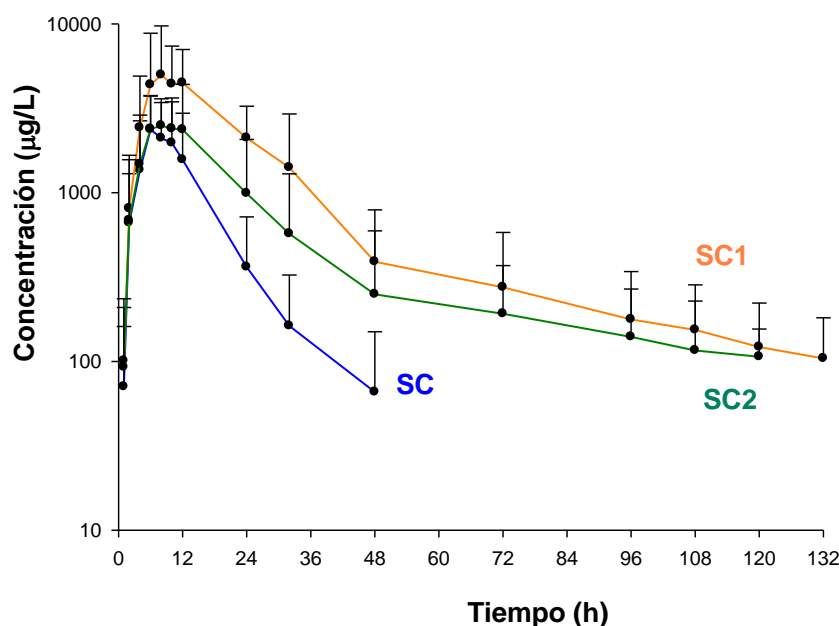


Gráfico 56.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de ciprofloxacino obtenidas en leche tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía subcutánea (SC), y de una dosis de 15 mg/kg por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a ovejas.

Para verificar la existencia de diferencias significativas entre las administraciones de ciprofloxacino vía IV, SC, SC1 y SC2, se ha realizado un estudio estadístico no paramétrico (H de Kruskal-Wallis) entre los parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el análisis no compartimental. Los resultados de este estudio se muestran en la [Tabla 68](#).

Parámetros	Probabilidad (significación)	Parámetros	Probabilidad (significación)
$C_{m\acute{a}x}$ ($\mu\text{g/L}$)	$P < 0,05$	$AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$	$P < 0,05$
$T_{m\acute{a}x}$ (h)	$P < 0,05$	$C_{m\acute{a}x\text{-leche}}/C_{m\acute{a}x\text{-plasma}}$	$P < 0,05$
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)	$P < 0,05$	% excreción	$P < 0,05$
MRT (h)	$P < 0,05$	-	-

La comparación de los parámetros y ratios en leche, en todas las vías de administración IV y SC, SC1 y SC2, para todos los animales, muestra la existencia de diferencias significativas en los valores del área bajo la curva ($AUC_{0-\infty \text{ leche}}$), de la concentración máxima en leche ($C_{m\acute{a}x}$),

del tiempo en que se alcanza dicha concentración ($T_{\text{máx}}$), del tiempo medio de residencia (MRT) y del ratio entre las concentraciones máximas en leche y plasma ($C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$).

En cuanto al porcentaje de fármaco excretado en leche y el ratio entre las áreas bajo la curva entre leche y plasma ($AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$), el test no paramétrico pone de manifiesto la no existencia de diferencias significativas entre las vías de administración IV y SC, SC1 y SC2.

Una vez realizada la prueba de Kruskal-Wallis, se realiza una segunda prueba no paramétrica en aquellos parámetros que muestran diferencias significativas, empleando la suma de rangos de Wilcoxon para muestras pareadas cuyos resultados se muestran en la tabla 38.

4.21.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS-FARMACODINÁMICOS OBTENIDOS DE ENROFLOXACINO FRENTE A CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

En la Tabla 70 se muestran las concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/mL}$) de enrofloxacin obtenidas frente a 10 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de la leche de ovejas lactantes con infecciones intramamarias. También se incluyen 2 cepas control de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Asimismo se muestran las concentraciones preventivas de mutantes obtenidas para dichas cepas a las mismas concentraciones de fármaco.

Niveles de concentración ($\mu\text{g/mL}$ de Enrofloxacin).										
Especies/Ori gen	N ^o	$\leq 0,03$	0,0 6	0,1 2	0,25	0,5	$\geq 1,0$ 0	MIC ₉₀	CPM ₉₀	RANG O
CMI S.aureus <i>leche de</i> ovejas	1 0			cep a 7 y 9	cepa 1,3,5,8,10	cepa 2,4	cepa 6	0,5		0,12-1
CPM <i>S.aureus</i> <i>leche de</i> ovejas	1 0				cepas 1,2,5,6,7,8, 10	cepas 3,9	cepa 4		0,5	0,25-1
S.aureusATC C 29213	1				CMI S.Aureus ATCC				CPM S.Aure us ATCC	
E. coli ATCC 25922	1								CPM E. coli ATCC	
									CMI E.Coli ATCC C	

TABLA 70.-CMI Y CPM DE ENROFLOXACINO.- Concentraciones mínimas inhibitorias CMI ($\mu\text{g/mL}$) y Concentraciones preventivas de mutantes CPM ($\mu\text{g/mL}$) de enrofloxacin frente a 10 cepas aisladas de *S.aureus* y 2 cepas patrón de *S.aureus* y *E.coli*, de ovejas lactantes con infecciones intramamarias.

Los resultados obtenidos son $\text{CMI}_{90} = 0,50 \mu\text{g/mL}$ y un rango de $0,12 - 1 \mu\text{g/mL}$ y de $\text{CPM}_{90} = 0,5 \mu\text{g/mL}$ y un rango de $0,25 - 1 \mu\text{g/mL}$. Por ello el ratio $\text{CPM}_{90}/\text{MIC}_{90} = 1$, siendo el ratio óptimo para la prevención de cepas resistentes. Como podemos observar, en concentraciones elevadas de especies de *Staphylococcus aureus* procedentes de aislados clínicos con mamitis, el enrofloxacin presentaría una acción óptima.

Como se ha mencionado anteriormente, entre los ratios farmacocinético–farmacodinámicos (PK-PD) que predicen una mejor eficacia y una menor aparición de resistencias para antibacterianos concentración dependientes se encuentran el AUC_{24}/CMI_{90} y $C_{m\acute{a}x}/CMI_{90}$. Estos ratios calculados para cada animal en función de sus parámetros farmacocinéticos en plasma, junto con sus estadísticos asociados, se muestran en la Tabla 71.

Vía	Ratio PK-PD	Animales sometidos a estudio (Ovejas)							
		1	2	3	4	5	Promedio	SD	CV
IV	AUC_{0-24}/MIC_{90} (h)	84,61	52,13	61,58	80,79	69,44	69,78	15,49	22,20
SC	AUC_{0-24}/MIC_{90} (h)	30	33,97	25,39	29,90	24,72	29,76	3,50	11,77
P407	AUC_{0-24}/MIC_{90} (h)	62	135,0	69	88	104	88,60	32,79	37,02
PCM C	AUC_{0-24}/MIC_{90} (h)	43,54	49,42	56,17	75,95	38,64	56,27	14,10	25,06
IV	C_0/MIC_{90}	26,26	11,41	17,90	23,96	23,29	19,88	6,66	33,48
SC	$C_{m\acute{a}x}/MIC_{90}$	2,98	5,01	3,40	3,07	2,86	3,62	0,95	26,16
P407	$C_{m\acute{a}x}/MIC_{90}$	4,22	9,49	5,13	5,80	7,54	6,16	2,31	37,53
PCM C	$C_{m\acute{a}x}/MIC_{90}$	2,74	3,92	69,49	87,88	103,82	41,01	44,15	107,67

TABLA 71.-RATIOS CONCENTRACIÓN ENROFLOXACINO/ MIC_{90} . Parámetros farmacocinéticos-farmacodinámicos correspondientes a enrofloxacino frente a aislados de *Staphylococcus aureus* en ovejas calculados tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía subcutánea (SC) y tras la administración por vía subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y en solución de polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2).

4.22.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS-FARMACODINÁMICOS DEL CIPROFLOXACINO OBTENIDOS FRENTE A CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

El enrofloxacino se metaboliza parcialmente a ciprofloxacino en el organismo en una media del 35-55% en ovejas con respecto al fármaco madre (AUC concentración-tiempo,

Mengozzi y cols., 1996). Por ello, una parte de la acción antimicrobiana se debe al ciprofloxacino como metabolito, tras la administración del enrofloxacino.

En la Tabla72 se muestran las concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/mL}$) de ciprofloxacino obtenidas frente a 10 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de la leche de ovejas lactantes con infecciones intramamarias y las concentraciones preventivas de mutantes. También se incluyen 2 cepas control de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Los resultados obtenidos son $\text{CMI}_{90} = 0,25 \mu\text{g/mL}$ y un rango de 0,12– 1 $\mu\text{g/mL}$., $\text{CPM}_{90}=0,5$ y un rango de 0,25-1. El ratio $\text{MIC}_{90}/\text{CPM}_{90}=0,5$.

Niveles de concentración ($\mu\text{g/mL}$ de Ciprofloxacino).										
Especies/Ori gen	Nº	$\leq 0,03$	0,0 6	0,1 2	0,25	0,5	$\geq 1,0$ 0	<u>CMI</u> <u>90</u>	<u>CPM</u> <u>90</u>	<u>RANGO</u>
<i>S.aureus</i> leche de ovejas	10			cepas 9		cepa 1-8,10	cepa 6	0,25		0,12-1
<i>S.aureus</i> leche de ovejas	10			cepas 10	cepas 2,3,5-8	cepas 1,9	cepa 4		0,5	0,25-1
<i>S.aureus</i> ATCC C 29213	1				CMI S.Aureus ATCC	CPM S.Aureus ATCC				
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1	CMI E.Coli ATCC C					CPM E. coli ATCC			

TABLA 72.-CMI Y CPM DE CIPROFLOXACINO.- Concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/mL}$) de ciprofloxacino frente a 10 cepas aisladas de *S.aureus* y 2 cepas patrón de *S.aureus* y *E.coli*, de ovejas lactantes con infecciones intramamarias.

Al metabolizarse parcialmente a ciprofloxacino, metabolito con actividad antibacteriana hay que considerar asimismo los ratios que mejor predicen su eficacia bacteriana, concretamente el $\text{AUC}_{24}/\text{CMI}_{90}$ y $\text{C}_{\text{máx}}/\text{CMI}_{90}$, ya que una parte de la actividad se deberá al ciprofloxacino. Estos ratios calculados para cada animal en función de sus parámetros farmacocinéticos en plasma, junto con sus estadísticos asociados, se muestran en la Tabla 73.

		Animales sometidos a estudio (Ovejas)							
Vía	Ratio PK-PD	1	2	3	4	5	Promedio	SD	CV
IV	$\text{AUC}_{0-24}/\text{MIC}_{90}$ (h)	169,23	104,25	123,16	161,59	138,88	139,56	30,99	22,20
SC	$\text{AUC}_{0-24}/\text{MIC}_{90}$ (h)	101,12	65,08	110,25	197,84	90,30	118,57	56,33	47,51
P40 7	$\text{AUC}_{0-24}/\text{MIC}_{90}$ (h)	141,82	237,97	345,60	305,35	508,76	257,69	89,10	34,58
PCM C	$\text{AUC}_{0-24}/\text{MIC}_{90}$ (h)	119,77	168,30	175,42	171,30	160,77	158,70	26,12	16,46
IV	$\text{C}_0/\text{MIC}_{90}$	17,40	7,80	19,09	26,78	26,57	17,77	7,80	43,87
SC	$\text{C}_{\text{máx}}/\text{MIC}_{90}$	7,71	5,03	9,75	14,75	12,88	9,31	4,11	44,13
P40 7	$\text{C}_{\text{máx}}/\text{MIC}_{90}$	8,67	15,45	23,33	20,86	37,23	17,08	6,50	38,05
PCM C	$\text{C}_{\text{máx}}/\text{MIC}_{90}$	5,210	12,89	12,89	18,99	13,58	12,49	5,64	45,17

TABLA 73.-RATIOS CONCENTRACIÓN CIPROFLOXACINO/ MIC_{90} Parámetros farmacocinéticos-farmacodinámicos correspondientes a ciprofloxacino frente a aislados de *Staphylococcus aureus* en

ovejas calculados tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía subcutánea (SC) y tras la administración por vía subcutánea de una dosis de 15 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y en solución de polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2).

5.- DISCUSIÓN

5.1.- ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE ENROFLOXACINO EN OVEJAS.

5.1.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.

La evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin a una dosis de 5 mg/kg en cabras, se ha ajustado a los modelos farmacocinéticos mono, bi y tricompartmentales con y sin ponderación de los datos experimentales obtenidos para cada animal.

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 valor de 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 mejor a un modelo bicompartimental con ponderación al inverso al cuadrado de las concentraciones plasmáticas. Así pues, se puede concluir que las concentraciones plasmáticas experimentales obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin en ovejas, se ajustan mejor a un modelo bicompartimental abierto.

Para verificar la bondad de estos ajustes al modelo bicompartimental, previamente se ha comprobado la homogeneidad de los datos mediante un análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de enrofloxacin (variable dependiente) no varían entre animales (variable independiente), y que no varían entre tiempos (variable independiente). Los resultados, indicados en la tabla 2, justifican que hay igualdad entre animales (son estadísticamente iguales), pero no hay igualdad entre los tiempos de extracción (la concentración en plasma es diferente a cada tiempo). De esta forma, al no existir diferencia significativa entre los animales, la única fuente de variación es el tiempo, por lo que se manifiesta homogeneidad a un tiempo determinado en las concentraciones.

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 enrofloxacin en cabras también obtienen un mejor ajuste del fármaco al modelo bicompartimental (Shem-Tov y col., 1997, Elsheiksh y cols 2002, Birmingham y Papich, 2002, Haritova y cols 2003.). Otros estudios realizados tras la administración intravenosa de enrofloxacin en distintas especies animales, también ajustan a un modelo bicompartimental: cabras (Waxman y cols 2002), 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 ovejas: marbofloxacino (Sidhu y cols., 2010), danofloxacino (Escudero y cols, 2007), difloxacino (Marín y cols., 2007).

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:

$$C = C_1 \times e^{-\bar{e}_1 \cdot t} + C_2 \times e^{-\bar{e}_2 \cdot t} \quad (1)$$

Esta ecuación adquiere diferentes valores para cada animal (Tabla 3), es por ello que para hallar la ecuación que mejor define la evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino en la oveja, se deben llevar a cabo estudios estadísticos que permitan calcular los valores medios para cada uno de los parámetros que intervienen en la misma. Dichos valores promedio se muestran en la Tabla 3.

Por consiguiente, la ecuación que define la evolución de las concentraciones plasmáticas experimentales, en la oveja tras la administración intravenosa, de una dosis única de 5 mg/kg de enrofloxacino, adquiere el siguiente valor:

$$C = 11373 \cdot e^{-0,58 \cdot t} + 826 \cdot e^{-0,09 \cdot t} \quad (2)$$

La representación semilogarítmica de las concentraciones individuales experimentales (Gráfico 1), pone de manifiesto que los niveles de enrofloxacino descienden rápidamente en la fase inicial 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 32 horas tras la administración).

Este hecho se aprecia más claramente al observar la representación semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 2), 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 oveja, está regida por dos constantes híbridas de disposición. La primera de ellas, o constante de disposición rápida (λ_1), rige fundamentalmente los procesos de distribución y la segunda o constante de disposición lenta (λ_z), los procesos de eliminación. Una vez alcanzado el equilibrio en la distribución, la constante de disposición rápida (λ_1), deja de tener influencia práctica, por lo que se puede asumir que la desaparición de enrofloxacino del plasma en ovejas, queda determinada por la constante de la última fase o constante de disposición lenta (λ_z). Por definición, el valor de λ_1 es siempre superior al de λ_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 de enrofloxacino tras su administración intravenosa a cabras. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental para cada uno de los animales, junto con sus valores medios y estadísticos asociados, y para las concentraciones medias se muestran en la Tabla 3. En la Tabla 4 aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales del fármaco referentes a cada animal, junto con sus valores medios y estadísticos asociados.

5.1.2.1.- CONSTANTES HÍBRIDAS DE DISPOSICIÓN RÁPIDA Y LENTA.

Las constantes λ_1 y λ_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 $0,57 \text{ h}^{-1}$ y $0,09 \text{ h}^{-1}$ para λ_1 y λ_z , respectivamente. Valores significativamente menores fueron obtenidos en un estudio realizado con el mismo fármaco en ovejas, concretamente $0,05 \text{ h}^{-1}$ y $0,003 \text{ h}^{-1}$ para λ_1 y λ_z , respectivamente (Elsheikh y cols 2002). Por otro lado, valores de λ_1 de

0,55 h⁻¹ y para λ_z de 0,13 h⁻¹, inferior y superior, respectivamente, al obtenido en nuestro estudio (Birmingham y Papich, 2002). Sin embargo, en otro estudio realizado por Rahal y cols. (2006), obtienen unos resultados superiores, de 7,33 h⁻¹ y 0,31 h⁻¹ para λ_1 y λ_z , respectivamente.

Las constantes híbridas de disposición pueden relacionarse mediante la razón λ_1/λ_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 λ_1/λ_z puede calcularse, obteniéndose un valor de 7,60 ($\pm 2,35$), el cual es indicativo de la diferencia existente entre ambas fases. Este valor indica que la distribución del enrofloxacin es, preferentemente, bicompartimental y que es la constante λ_z la que controla principalmente los procesos anteriormente citados, ya que los regula durante más tiempo.

En ovejas, para otras fluoroquinolonas como marbofloxacin se presentan valores para λ_1 de 3,49 h⁻¹ y para λ_z de 0,335 h⁻¹ (Shem-Tov y cols 1997), y de 1,54 h⁻¹ y 0,175 h⁻¹ para λ_1 y λ_z Sidhu y cols. (2010), inferiores y superiores, respectivamente, a los obtenidos en nuestro estudio.

5.1.2.2.- MICROCONSTANTES.

Las constantes λ_1 y λ_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 compartimento central (k_{10}). Podemos observar esquemáticamente en la figura 1, los procesos de transferencia del fármaco entres los dos compartimentos, central y periférico, y el de eliminación desde el central.

En este modelo, el fármaco se distribuye instantáneamente en el compartimento central, desde el cual pasa al compartimento periférico de acuerdo con un proceso cinético de primer orden, regido por la constante de velocidad k_{12} y retorna hacia el compartimento 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 enrofloxacin en la oveja, son $k_{12} = 0,13 \text{ h}^{-1}$, $k_{21} = 0,12 \text{ h}^{-1}$ y $k_{10} = 0,41 \text{ h}^{-1}$ (Tabla 3). Esto pone de manifiesto que para cada animal la constante de eliminación desde el compartimento central (k_{10}) es la que adquiere un mayor valor, indicando una rápida eliminación del fármaco desde el compartimento central, con poca distribución al compartimento periférico. Este hecho parece indicar que el fármaco tiene poca capacidad para acumularse o retenerse en el compartimento periférico.

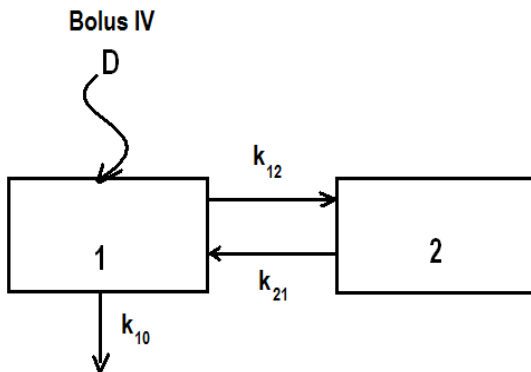


Figura 1.- Representación esquemática del modelo bicompartimental tras la administración intravenosa de un fármaco.

Si observamos estas constantes podemos establecer relaciones de interés, como la relación λ_z/k_{10} , que alcanza un valor de $0,22 (\pm 0,07)$, y señala una eliminación global del antibacteriano desde todo el organismo, regida por una constante λ_z inferior a la verdadera constante de eliminación (k_{10}), lo que confirma de nuevo la adecuación de la disposición de enrofloxacin a un modelo bicompartimental.

Del estudio de la relación k_{12}/k_{10} , se obtiene un valor de $0,59 (\pm 0,50)$. Como se puede observar, este valor es menor a 1 y nos indica que existe una velocidad de eliminación del fármaco del plasma, por metabolismo y excreción, superior a la de distribución del mismo. Que la velocidad de eliminación del fármaco sea 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 enrofloxacin, 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 $1,18 (\pm 0,97)$. Este resultado indica que el fármaco accede al compartimento periférico pero retorna con facilidad del mismo al compartimento central, ya que la relación obtenida no es muy superior a 1.

Del análisis de la relación k_{21}/k_{10} , se obtiene un valor de 0,81 ($\pm 0,04$), 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 fármaco en el compartimento periférico.

5.1.2.3.- SEMIVIDA Y TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA.

La semivida de la fase de disposición rápida ($t_{1/2\lambda 1}$) para enrofloxacino, ha sido de 1,21 horas, y la semivida 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, Rowland y Tozer, 2010) se estima en 8,11 horas (Tabla 3).

En los últimos años resulta difícil encontrar en la bibliografía estudios farmacocinéticos que utilicen la nomenclatura λ_1 , λ_z , $t_{1/2\lambda 1}$ y $t_{1/2\lambda z}$. La popularidad del programa Winnonlin® que utiliza los parámetros α y β , hace que la gran mayoría de los estudios farmacocinéticos presenten las vidas medias, en el caso de que los datos se ajusten a un modelo bicompartimental, como $t_{1/2\alpha}$ y $t_{1/2\beta}$. El valor de la semivida de la fase de disposición rápida de nuestro estudio es superior al obtenido para otras fluoroquinolonas como moxifloxacino en ovejas (0,02 h; Cárceles y cols., 2009).

El valor de la semivida ($t_{1/2\lambda z}$) obtenido en nuestro estudio (8,11 h) es superior al obtenido en oveja para enrofloxacino por otros autores (3,25 h; Elsheikh y cols. 2002; 3,3 h; Haritova y cols. 2003; 2,12 h; Otero y cols. 2009), e inferior al obtenido también en ovejas por Bermingham y Papich (2002) que obtuvieron una semivida de 17 horas.

En otras especies animales estudiadas el $t_{1/2\lambda z}$ 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).

Los valores de semivida encontrados para otras fluoroquinolonas en ovejas; moxifloxacino (5,05 h; Cárceles y cols. 2009), danofloxacino (3,27 h; Escudero y cols, 2007, 2,01 h Shem-Tov y cols. 1997).

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 5,41 horas (Tabla 4). Este resultado es superior al obtenido por Otero y cols. (2009) también en ovejas, y al obtenido por Haritova y cols. (2003) con un valor de 4,17 horas.

El valor es comparable al obtenido para otras especies como en caballos (Peyrouu y cols., 2006) que obtuvieron un valor de 6,35 horas, y bastante superior al obtenido en otras especies rumiantes como vacas (2,27 h; Idoswu y cols., 2010). También es superior al obtenido en un estudio realizado en cabras tras la administración de 5 mg/kg de enrofloxacin (3,15 horas, Rao y cols., 2002b). El resultado obtenido en nuestro estudio también es comparable con el obtenido en ovejas (3,29 h, Shem-Tov y cols 1997, 4,11 h Sidhu y cols.).

Valores de MRT muy superiores a los obtenidos en nuestro estudio se han señalado en 12,77 horas en Cerdos (Anadon y cols., 1999) y pollos (8,96 h; Dimitrova y cols., 2007).

5.1.2.4.- VOLÚMENES DE DISTRIBUCIÓN APARENTE.

El volumen de distribución aparente de enrofloxacin calculado en función del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (V_z) en oveja, alcanza un valor de 2,01 L/kg, en tanto que el volumen de distribución en estado estacionario (V_{ss}) adquiere un valor de 0,89 L/kg (Tabla 4). 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 λ_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 (Doménech y cols., 1997).

El valor obtenido en oveja de V_{ss} por Otero y cols. (2009), tras la administración de la misma dosis de 5 mg/kg, es de 1,1 L/kg, sensiblemente inferior al obtenido en nuestro estudio, y de 2,82 L/kg en el caso de Haritova y cols., (2003). Los valores de V_z no fueron indicados en estos estudios.

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 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: 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).

5.1.2.5.- ÁREA BAJO LA CURVA.

El área bajo la curva de niveles plasmáticos (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 enrofloxacin en ovejas es de 31637 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Tabla 4), este valor es inferior al obtenido por Haritova y cols. (2003) con un resultado de 41.900 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ para el mismo fármaco en ovejas y muy parecido al obtenido por Bermingham y cols. (2002) con un valor de 31.190 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$.

Respecto a valores de AUC obtenidos en otras especies tras la administración de enrofloxacin 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).

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 parecidos en goral del Himalaya (37050 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$, Gandolf y cols., 2006).

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 0,16 L/kg·h (Tabla 4).

Otero y cols (2009), obtuvieron un valor de 0,29 L/kg·h, prácticamente del doble al obtenido en nuestro estudio, y muy parecido al de Bermingham y cols (0,2 L/kg·h). Sensiblemente superior fue el obtenido por Haritova y cols., (2003) con un valor de 10,05 L/kg·h.

Valores también superiores a los descritos en nuestro estudio han sido encontrados en otros animales. Así, se obtuvieron valores de de 0,29 L/kg·h en pollos, 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), prácticamente igual al aclaramiento de nuestro estudio..

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; Bermingham 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).

5.1.3.- ESTUDIO DE CIPROFLOXACINO, METABOLITO ACTIVO DE ENROFLOXACINO, TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE ENROFLOXACINO.

Los valores de las concentraciones plasmáticas experimentales del metabolito del enrofloxacin, ciprofloxacino en función del tiempo en cada oveja se muestran en la tabla 5, así como su representación gráfica (Gráfico 3).

5.1.3.1.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis no compartimental del ciprofloxacino, se muestran en la Tabla 6. 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 enrofloxacin a ovejas.

Cabe destacar que los parámetros farmacocinéticos del ciprofloxacino, al ser un producto del metabolismo del enrofloxacin, presentan gran variabilidad no solo entre distintas especies animales, sino entre ellas mismas.

5.1.3.1.1- 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 6,83 h (Tabla 7).

Este valor es 2,88 veces superior al hallado por Rhal y cols. (2006) en ovejas (2,37 h), tras la administración de 5 mg/kg de enrofloxacinó. Sin embargo, utilizando una dosis inferior (2,5 mg/kg), en la misma especie animal, se halló un valor de semivida 1,4 veces superior (4,13 h; Mengozzi y cols., 1996).

Valores aproximados de semivida, aunque superiores 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 inferiores a los hallados en nuestro estudio: en perros 3,9 h (Küng y cols., 1993), en caballos 5,1 h (Kaartinen 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 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 6,36 h (Tabla 7).

Este parámetro presenta una gran variabilidad dependiendo de la especie estudiada, describiéndose en ovejas un valor muy inferior 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 (Mengozzi y cols., 1996).

En otros pequeños rumiantes, como 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 enrofloxacinó y una dosis de 40 mg/kg de enrofloxacinó junto con probenecid, respectivamente (Rao y cols., 2002a; Rao y cols., 2002b).

Otros estudios realizados con enrofloxacinó 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 enrofloxacinó.

5.1.3.1.2- 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 enrofloxacinó, 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 1,60 h (Tabla 7). Este valor no es elevado e indica que la $C_{m\acute{a}x}$ se alcanza poco después de la hora y media de la administración.

En los 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 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 $T_{m\acute{a}x}$ inferiores 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 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 oveja en nuestro estudio, ha sido de 260,34 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 7).

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).

En los estudios realizados en cabras se describe un 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.

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 (Kartinen 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 enrofloxacin 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).

5.1.3.2.4- ÁREA BAJO LA CURVA.

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 1361,52 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Tabla 7). Un valor superior se obtuvo en perros, concretamente de 1749 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Küng y cols., 1993).

En la misma especie, con igual dosis, se obtuvo un AUC inferior, aproximadamente 3,9 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 (Kartinen y cols., 1997; Papich y cols., 2002).

5.2.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN OVEJAS.

5.2.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.

La evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin, tras la administración subcutánea de 5 mg/kg en ovejas (tabla 8), se ha ajustado, igual que en la administración intravenosa, a modelos compartimentales con y sin ponderación de los datos experimentales.

En todos los animales estudiados el valor de AIC indica un mejor ajuste a un modelo bicompartimental con ponderación al inverso al cuadrado de la concentración. 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, y tras un análisis de la varianza no paramétrico (tabla 9), se ha verificado la homogeneidad de los datos obteniéndose que, la única fuente de variación es el tiempo, por lo que se manifiesta homogeneidad a un tiempo determinado en las concentraciones para todos los animales.

El único estudio encontrado que realiza un análisis compartimental de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin tras su administración en ovejas es el realizado por Rahal y cols., (2006).

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:

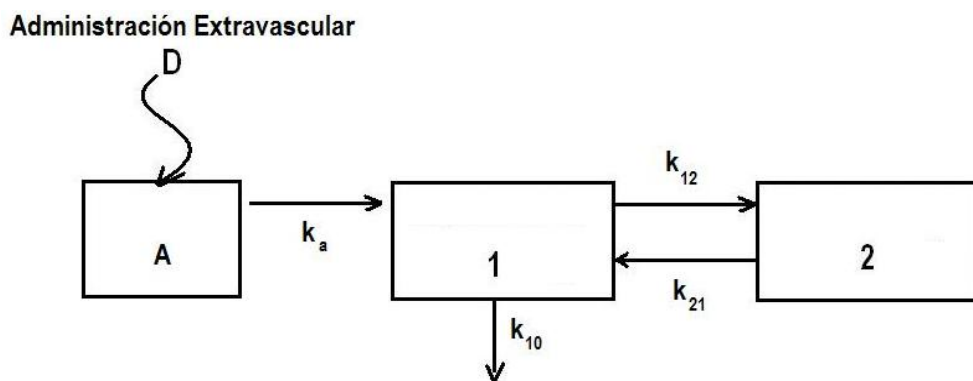


Figura 3.- Representación esquemática del modelo bicompartimental tras la administración extravascular de un fármaco.

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:

$$C = C_1 \times e^{-\lambda_1 \cdot t} + C_2 \times e^{-\lambda_2 \cdot t} - C_a \times e^{-k_a \cdot t} \quad (6)$$

Dicha ecuación adquiere valores distintos en cada animal, los cuales se muestran en la Tabla 10 junto con sus valores medios y estadísticos de desviación.

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:

$$C = 45903 \cdot e^{-0,31 \cdot t} + 282,05 \cdot e^{-0,06 \cdot t} - 46186 \cdot e^{-0,39 \cdot t} \quad (7)$$

La representación directa de las concentraciones medias experimentales para cada animal en escala semilogarítmica y para las concentraciones medias (Gráficos 5 y 6), pone de manifiesto que los niveles de enrofloxacino aumentan rápidamente durante la primera fase de absorción del fármaco alcanzando su máximo alrededor de las 2,8 – 5 horas, para descender rápidamente en la fase posterior, hasta las 24 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 72 horas tras la administración). Este hecho se aprecia más claramente al observar la representación semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 6), 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 puede considerarse 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 (λ_1), rige fundamentalmente los procesos de distribución, y la disposición lenta que viene dada por la constante de disposición lenta (λ_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 ovejas, tras su administración subcutánea. Sin embargo, esta ecuación no es válida, para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos que caracterizan la evolución del fármaco en la oveja, 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 y no compartimental para enrofloxacino, se muestran en las Tablas 10 y 11 respectivamente, y van referidos a cada animal, junto con los valores medios y estadísticos asociados. Pasamos a continuación a comentar los parámetros farmacocinéticos más representativos del fármaco 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 ($t_{1/2\lambda 1}$) 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 2,24 y 13,00 h, respectivamente (Tabla 10).

Estos valores obtenidos son superiores a los obtenidos tras la administración intravenosa (1,21 h y 8,11 h, Tabla 3), para $t_{1/2\lambda 1}$ y $t_{1/2\lambda z}$, respectivamente. Ello puede ser indicativo de que el proceso de absorción, condiciona de alguna manera o limita la eliminación.

El valor de $t_{1/2\lambda z}$ obtenido en nuestro estudio es 1,8 veces superior al obtenido en otro estudio similar realizado en ovejas, que reporta un valor de 7,12 h (Rahal y cols 2006), no se han descrito otros estudios con administración subcutánea de enrofloxacino en ovejas.

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 (Kartinen 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).

El MRT obtenido presenta un valor de 7,92 h (Tabla 11). Éste parámetro es 1,5 veces mayor que el descrito tras la administración intravenosa (5,42h, Tabla 4).

En ovejas se han encontrado valores de MRT de casi el doble en el estudio de Rahal y cols. (2006), respecto a los hallados en nuestro estudio para enrofloxacino a la misma dosis, concretamente de 11,23 h.

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), en el caso de vacas lactantes y

alpacas: 8,4 y 10,33 h (Kaartinen y cols., 1995; Gandolf y cols., 2005;). A todos los animales se les administró una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin.

En la Tabla 11, se presentan los valores correspondientes al MRT y el tiempo medio de absorción (MAT) subcutáneos; en tanto que el MRT intravenoso aparece en la Tabla 4. A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar como en todas las ovejas el valor de MAT es inferior al del MRT intravenoso. Si se consideran los valores medios obtenidos, el MRT intravenoso (5,41 h) resulta ser entorno a 1,7 veces superior al MAT subcutáneo (3,16 h). De ello se concluye que, en principio, la absorción, tras la administración subcutánea de enrofloxacin, no condiciona o condiciona poco su eliminación.

Rahal y cols., (2006) describen para el mismo fármaco en ovejas a la misma dosis un MAT de 8,01 horas, bastante superior al obtenido en nuestro estudio.

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 ovejas han descrito valores de MAT similares aunque algo superiores para moxifloxacin a 5 mg/kg (9,02 h, Cárceles y cols., 2009) y menor para danofloxacin a los encontrados en nuestro estudio (Escudero y cols., 2007).

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 3,20 h (Tabla 10). 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 Rahal y cols (2006) en ovejas, señalan un valor de $T_{m\acute{a}x}$ de 2,00 h, inferior al obtenido en nuestro estudio. Este resultado ha sido similar al reportado en cabras, 2,9 h (Ramesh y cols., 2002) y vacuno (Stegemann y cols., 1997).

En otras especies animales se han obtenido valores de $T_{m\acute{a}x}$ superiores: 6 h en alpacas, 4,8 h en vacas, e igual (3,2 h) en 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, nos indican una absorción del enrofloxacino aún más rápida que en la oveja.

En cuanto a la concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$), el valor obtenido para enrofloxacino en oveja, ha sido de 3944 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 10). Rahal y cols (2006), tras la administración de la misma dosis a ovejas obtuvieron una $C_{m\acute{a}x}$ sensiblemente inferior de 660 $\mu\text{g/L}$, y la obtenida en conejos (1643 $\mu\text{g/L}$; Álamo 2012). En caballos, también a igualdad de dosis, la $C_{m\acute{a}x}$ obtenida es, aproximadamente, cuatro veces inferior, con un valor de 1070 $\mu\text{g/L}$ (Bousquet-Melou y cols, 2002).

En otras fluoroquinolonas descritas en ovejas se han obtenido valores también inferiores de $C_{m\acute{a}x}$ con los de nuestro estudio, como ocurre con danofloxacino (1480 $\mu\text{g/L}$; Escudero y cols., 2007) y moxifloxacino (3250 $\mu\text{g/L}$; Cárceles y cols., 2007). Aunque al ser un parámetro dependiente de la dosis y tratarse de distintos fármacos hay que tratar los resultados con cautela.

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 ovejas. 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 0,39 h^{-1} (Tabla 10) y la vida media asociada a la misma ($t_{1/2k_a}$) 1,79 h.

Si comparamos el valor obtenido para $t_{1/2k_a}$ con el obtenido para $t_{1/2k_z}$ intravenoso, que es 8,11 h (Tabla 3), podemos observar como este último es casi 4,5 veces mayor, lo que indica que la fase de absorción no condiciona la eliminación de enrofloxacino en la oveja.

Rahal y cols., (2006) en su estudio ofrecen un valor de 0,58 h para $t_{1/2k_a}$, bastante inferior a nuestro estudio, lo que supone una absorción más lenta de enrofloxacino en nuestro estudio.

En otras especies, se dispone de valores de k_a de enrofloxacino tras su administración subcutánea en conejos, cuyo valor es de 2,78 h^{-1} , correspondiendo un valor de $t_{1/2k_a}$ de 0,3 h (Broome y cols., 1991). 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 que en las ovejas.

5.2.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD.

El AUC, obtenida tras la administración subcutánea, alcanza un valor de 32765 µg·h/L (Tabla 11). Como ya se podía inferir de los valores obtenidos en anteriores parámetros dosis dependientes como la C_{max}, este valor es muy superior al obtenido en el estudio de Rahal y cols (2006), en el que, a igualdad de dosis, se obtiene un valor de 8780 µg·h/L.

En un estudio realizado en cabras, con una dosis de 7,5 mg/kg, se describió un AUC inferior al obtenido en nuestro estudio (19350 µg·h/L; Ramesh y cols., 2002).

En terneros el AUC del enrofloxacin 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 valor del AUC permite calcular la biodisponibilidad (F) del fármaco, tras la administración subcutánea, mediante la siguiente ecuación:

$$F\% = 100 \times \frac{AUC_{0\ EV}^{\infty} / D_{EV}}{AUC_{0\ IV}^{\infty} / D_{IV}} \quad (8)$$

Donde el subíndice EV hace referencia a las vías extravasculares empleadas, en nuestro la subcutánea en formulación convencional o SC.

La biodisponibilidad obtenida es muy elevada, del orden del 104,72% ± 24,45 (Tabla 11), lo que indica que, posiblemente, todo el fármaco acceda a la circulación sistémica.

En ovejas, Rahal y cols obtienen un valor de 50 % , y en caballos Bousquet-Melou y cols, 2002 obtuvieron un valor del 97,6 %.

En conejos (Broome y cols., 1991), se ha descrito un valor de biodisponibilidad alto, 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. El elevado valor de biodisponibilidad de nuestro estudio concuerda bastante con casi todos los estudios realizados con enrofloxacin en distintas especies.

5.2.3.- ESTUDIO DE CIPROFLOXACINO, METABOLITO ACTIVO DE ENROFLOXACINO, TRAS LA ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO.

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 ovejas se puede observar en la tabla 12 y en los gráficos 7 y 8.

5.2.3.1.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

Los parámetros farmacocinéticos más representativos, referidos a cada animal y a las concentraciones medias, obtenidos por análisis no compartimental del ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacino a ovejas se muestra en la Tabla 14.

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.

Al igual que en apartados anteriores, el único estudio que presenta datos sobre los parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacino como metabolito de enrofloxacino en ovejas a la misma dosis es el realizado por Rahal y cols., (2006).

5.2.3.1.1.- TIEMPO DE VIDA MEDIA Y MRT.

El ciprofloxacino, tiene una semivida ($t_{1/2z}$), tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino, de 10,62 h (Tabla 14). Comparando este valor de semivida con el obtenido en la vía intravenosa (6,83 h; Tabla 7), resulta ser inferior (1,55 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.

Como suele ser frecuente en los estudios farmacocinéticos, los $t_{1/2z}$ encontrados tras la administración subcutánea suelen superiores a los encontrados tras la administración intravenosa, como ocurre con el enrofloxacino en nuestro estudio y también en ovejas (Rahal y cols., 2006) para el ciprofloxacino, tras la administración de igual dosis de enrofloxacino ($t_{1/2z}$ iv = 2,37 h y $t_{1/2z}$ sc = 4,11 h).

Estudios realizados en vacas reportan semividas inferiores a los descritos en nuestro estudio: 9,67 h, con una dosis de 8 mg/kg de enrofloxacinó 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 enrofloxacinó por vía intramuscular.

En cuanto al MRT, se ha obtenido un valor de 11,90 h (Tabla 14), 2,2 veces mayor que el descrito tras la administración intravenosa (5,41 h).

En la literatura se ha encontrado gran variabilidad en este parámetro dependiendo de la especie estudiada. Un MRT inferior, 5,27 h, se ha descrito en vacas, tras administrar la misma dosis que en nuestro estudio (De Lucas y cols., 2008).

En la misma especie (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 enrofloxacinó (Rao y cols., 2001), el MRT del ciprofloxacino es casi la mitad, 2,73 h.

5.2.3.1.2.- 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 4,4 h (Tabla 14). Si lo comparamos con el $T_{m\acute{a}x}$ obtenido en la vía intravenosa (1,60 h; Tabla 7), resulta ser casi 3 veces superior, por lo que la formación del ciprofloxacino será más prolongada cuando administramos el enrofloxacinó vía subcutánea. Esto concuerda con que se produzcan menores concentraciones del metabolito y así parezca que la eliminación es más rápida.

Rahal y cols. (2006) describen en ovejas un $T_{m\acute{a}x}$ de 1,33 horas, también casi 4 veces inferior al de nuestro estudio a la misma dosis.

Rao y cols. (2001) reportan, en cabras tras la administración intramuscular de enrofloxacinó, un $T_{m\acute{a}x}$ de 1,2 h. 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).

En cuanto a la concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$), de ciprofloxacino en oveja es de 213,11 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 14), similar a la obtenida para la vía intravenosa (260,34 $\mu\text{g/L}$; Tabla 7). Prácticamente el mismo valor fue obtenido para ciprofloxacino en cabras cuando se administró una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacinó vía intramuscular (240 $\mu\text{g/L}$; Rao y cols., 2001). Sin embargo, en ovejas a la misma dosis, Rahal y cols. (2006) obtienen un valor sensiblemente

inferior (50 µg/L) probablemente a consecuencia también de la menor biodisponibilidad presentada en ese estudio de enrofloxacin.

En terneros (Mckellar y cols., 1999), la $C_{m\acute{a}x}$ es menor (110 µg/L), que en la oveja. Un valor de 60 µg/L, fue descrito en alpacas (Gandolf y cols., 2005). En ambas especies la dosis administrada de enrofloxacin 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 enrofloxacin administrada fue de 8 mg/kg, mientras que en el segundo, la dosis fue de 12,5 mg/kg.

5.2.3.1.3.- ÁREA BAJO LA CURVA.

El AUC obtenido para el ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin es de 2375,641 µg·h/L (Tabla 14), inferior al obtenido para el ciprofloxacino cuando se administró el enrofloxacin vía intravenosa (1289,07 µg·h/L; Tabla 7).

En ovejas (Rahal y cols., 2006), en igualdad de condiciones, el AUC es 300 µg·h/L, muy inferior al de nuestro estudio (aproximadamente 8 veces menor). En alpacas (Gandolf y cols., 2005), administrando una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, el AUC también es muy inferior, 460 µg·h/L. También es inferior, 1,4 veces, en terneros (Mckellar y cols., 1999): 1359 µg·h/L.

Los demás estudios presentes en la literatura han sido realizados en vacas a diferentes dosis de enrofloxacin y en todos ellos se han obtenido valores de AUC similares a los encontrados en nuestro estudio: 2190 µg·h/L (De Lucas y cols., 2008), 3480 µg·h/L (Terhune y cols., 2005) y muy superiores con 10380 µg·h/L (Davis y cols., 2007), cuando se administró enrofloxacin vía subcutánea a dosis de 5, 8 y 12,5 mg/kg, respectivamente.

5.3.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% EN OVEJAS (SC1)

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 ovejas, se ha ajustado a modelos compartimentales, 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 intravenosa y subcutánea sin polímero.

Como en casos anteriores, y tras un análisis de la varianza no paramétrico (tabla 16), se ha verificado la homogeneidad de los datos obteniéndose que, la única fuente de variación es el tiempo, por lo que se manifiesta homogeneidad a un tiempo determinado en las concentraciones para todos los animales.

Para nuestro conocimiento, en la literatura no existen estudios farmacocinéticos realizados con enrofloxacin en fórmulas de liberación controlada como es el caso de la formulación SC1 en ovejas. 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). Por otro lado, si hemos encontrado referencias con otras fluoroquinolonas en cabras, Marín y cols. (2010a), Titos Arcos (2010) y Mancebo (2011) describieron la farmacocinética de la misma formulación en solución del polímero P407 al 25% con difloxacin, enrofloxacin y danofloxacin, respectivamente. En ambos estudios el modelo compartimental descrito para la formulación SC-P407 fue bicompartimental y en algunos casos tricompartmental Mancebo (2011).

El modelo bicompartimental abierto tras una dosis subcutánea, viene definido por la siguiente ecuación:

$$C = C_1 \cdot e^{-\lambda_1 \cdot t} + C_2 \cdot e^{-\lambda_2 \cdot t} - C_a \cdot e^{-k_a \cdot t} \quad (9)$$

La ecuación 9, similar a la ecuación 6, adquiere valores distintos en cada animal, que se muestran en la Tabla 17 junto con sus valores medios y estadísticos de desviación.

Por tanto, la ecuación que mejor describe la evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin en formulación SC1 en oveja, tras su administración subcutánea SC1, obtenida con los parámetros medios, adopta el siguiente valor:

$$C = 32749 \cdot e^{-0,12 \cdot t} + 290 \cdot e^{-0,02 \cdot t} - 33040 \cdot e^{-0,17 \cdot t} \quad (10)$$

En los Gráficos 9 y 10, se representan las concentraciones individuales para cada animal en escala semilogarítmica, y las medias experimentales. Puede observarse como los niveles de enrofloxacin 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 (desde las 32 hasta las 96 horas tras la administración). Este hecho se aprecia más claramente al observar la representación semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 10).

La transformación de esta recta semilogarítmica, en su ecuación exponencial correspondiente, desarrolla la expresión triexponencial indicada en la ecuación 10, con tres fases exponenciales: absorción, regida por la constante de absorción (K_a), disposición rápida, descrita por la constante de disposición rápida (λ_1), rige fundamentalmente los procesos de distribución, y la disposición lenta que viene dada por la constante de disposición lenta (λ_z), que rige los procesos de eliminación.

5.3.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental y no compartimental, de enrofloxacino en formulación SC1, se muestran en las Tablas 17 y 18. Todos los parámetros van referidos a cada animal y a sus valores medios y estadísticos asociados.

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 de 5,60 h 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), 34,80 h (Tabla 17).

El $t_{1/2\lambda_1}$ obtenido resulta ser casi 4,5 y 2,5 veces superior a los obtenidos tras la administración intravenosa y subcutánea sin polímero (Tabla 29), que son de 0,09 y 0,05 h, respectivamente.

En cuanto al $t_{1/2\lambda_z}$, resulta ser casi 4,2 veces que el obtenido tras la administración intravenosa (8,11 h; Tabla 29), y 2,7 veces superior al obtenido tras la administración subcutánea sin polímero (13,00 h; Tabla 30). Esto puede ser indicativo de que el proceso de absorción, a diferencia de la administración subcutánea sin polímero, puede ser un factor limitante de la eliminación.

Si comparamos la semivida obtenida al administrar enrofloxacino en formulación SC1, con los valores obtenidos en el caso de otras fluoroquinolonas, además de enrofloxacino, administradas con la formulación SC1 en cabras, ya que es la única información disponible en la bibliografía, el aumento de la vida media respecto a las vías intravenosa y SC sin polímero fue, en el caso de difloxacino de 5,23 h (IV)---5,69 h (SC)---32,36 h (SC1) (Marín y cols., 2010a), en el caso de enrofloxacino de 10,44 h (IV)---12,42 h (SC)---19,97 h (SC1) (Titos, 2010), y para danofloxacino de 2,97 h (IV)---1,5 h (SC)---8,26 h (SC1) (Mancebo 2011). Este incremento del

parámetro (de 2-4 ordenes de magnitud) también fue observado en enrofloxacino; 8,11 h (IV)---13,00 h (SC)---34,80 h (SC1). El alargamiento de la vida media observado es bastante alto, teniendo en cuenta los resultados obtenidos con la misma formulación para las fluoroquinolonas anteriores.

Por otro lado, el MRT alcanza un valor de 20,74 h (Tabla 29). Este parámetro es 4 veces mayor al descrito tras la administración intravenosa (5,41 h; Tabla 29). Igualmente, es casi 2,5 veces superior al obtenido vía subcutánea sin polímero (7,92 h; Tabla 29).

En la Tabla 18, 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 la Tabla 4. 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. De ello se concluye que, en principio, la absorción, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en formulación SC1, puede comportarse como factor limitante de la eliminación.

5.3.2.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.

El $T_{m\acute{a}x}$ ha resultado ser 8,00 h (Tabla 17). Si lo comparamos con el $T_{m\acute{a}x}$ obtenido en la vía subcutánea sin polímero (3,20 h; Tabla 29), resulta ser 2,5 veces superior.

Un valor inferior, 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). Lo mismo puede decirse para la administración de enrofloxacino por vía subcutánea en solución SC1 en cabras, resultando un valor de $T_{m\acute{a}x}$ de 4,03 h (Titos Arcos 2010) y para difloxacino de 3,6 horas (Marín y cols., 2010a). Para danofloxacino, en la misma formulación, se obtuvo un valor inferior de 1,42h (Mancebo 2011)

La $C_{m\acute{a}x}$, obtenida para enrofloxacino en formulación SC1 en ovejas, ha sido de 3965,44 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 17), muy similar a la $C_{m\acute{a}x}$ alcanzada tras la administración subcutánea sin polímero (3944,20 $\mu\text{g/L}$; Tabla 17). Teniendo en cuenta que la administración de enrofloxacino junto con polímero se hizo a una dosis tres veces superior (15 mg/kg, en lugar de 5 mg/kg), así, el valor obtenido resulta un tercio inferior a lo esperado. Sin embargo, ha de tenerse en cuenta que la formulación es distinta, y que las fases de ingreso pueden ser diferentes (liberación y absorción).

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 a la nuestra concretamente de 1830 $\mu\text{g/L}$, concentración similar a la hallada cuando se administró moxifloxacino sin polímero (1610 $\mu\text{g/L}$).

Para otras fluoroquinolonas administradas en cabras con la misma formulación SC1, el valor de $C_{m\acute{a}x}$ obtenido fue similar para enrofloxacino con 2935,74 $\mu\text{g/L}$ (15 mg/kg Titos Arcos, 2010) y para difloxacino con 2970 $\mu\text{g/L}$ (15 mg/kg, Marín y cols., 2010a), pero inferior al obtenido con danofloxacino de 4260 $\mu\text{g/L}$ (18mg/kg, Mancebo 2011)

En nuestro experimento la concentración inicial alcanzada por vía intravenosa, de 17138 $\mu\text{g/L}$, a una dosis de 5 mg/kg, 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 enrofloxacino en formulación SC1 a ovejas, se ha obtenido un valor aparente de la constante de absorción (k_a) de 0,17 h^{-1} (Tabla 17) y de la vida media asociada a la misma ($t_{1/2ka}$) de 4,11 h (Tabla 17). Si los comparamos con los valores de k_a y de $t_{1/2ka}$ obtenidos tras la administración subcutánea sin polímero; 0,39 h^{-1} y 1,79 h (Tabla 29), podemos observar como la absorción es 2,3 veces más lenta cuando se administra el fármaco en formulación SC1. De ahí las propiedades del polímero en controlar la liberación del fármaco y por tanto en alcanzar la circulación sanguínea más lentamente.

Para la misma formulación SC1 en cabras, con enrofloxacino (Titos Arcos, 2010), se obtuvieron unos valores de k_a de 0,31 h^{-1} y de $t_{1/2ka}$ de 2,28 h, mientras que por vía subcutánea sin polímero fueron de $k_a = 0,46 \text{ h}^{-1}$ y de $t_{1/2ka} = 1,52 \text{ h}$. Para danofloxacino (Mancebo 2011) se obtuvieron valores de k_a de 0,55 h^{-1} , y un $t_{1/2ka}$ de 1,34 h, mientras que por vía subcutánea sin polímero fueron de $k_a = 0,55 \text{ h}^{-1}$ y de $t_{1/2ka} = 1,33 \text{ h}$. Podemos observar como la absorción es 1,5 veces más lenta para enrofloxacino cuando se administra el fármaco en formulación SC1, pero similar cuando se utiliza danofloxacino.

5.3.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD.

El valor de AUC, obtenido tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC1, fue de 76.794 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Tabla 18). Muy superior al obtenido para danofloxacino, en cabras, a la dosis de 18 mg/kg en la formulación SC1 (Mancebo 2011), de 21540 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$. De igual forma, para enrofloxacino, y difloxacino, administrados en formulación SC1 a una dosis de 15 mg/kg cada uno (Titos Arcos 2010, Marín y cols 2010a) en cabras, los valores alcanzados fueron inferiores, 37483,41 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ y 41500 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ respectivamente.

Comparada con las vías subcutánea sin polímero e intravenosa, el AUC es 2 veces mayor, teniendo en cuenta que se ha administrado una dosis tres veces superior con la formulación SC1.

La biodisponibilidad obtenida ha sido del 82,01 % (\pm 22,06, Tabla 18). Como podemos observar, la asociación del polímero no parece afectar mucho a la biodisponibilidad, ya que el valor obtenido cuando se administró el fármaco por vía subcutánea sin polímero fue del 113,72% (Tabla 29), reduciéndose menos de un 15% si se compara con la vía SC. La disminución de la biodisponibilidad también ha sido descrita, 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), y en cabras, con la misma formulación SC1, para enrofloxacin (55,81%, Titos, 2010), difloxacino (72,58%, Marín y cols., 2010a), y danofloxacino (89,20%, Mancebo 2011) .

5.3.3.- ESTUDIO DE CIPROFLOXACINO, METABOLITO ACTIVO DE ENROFLOXACINO, TRAS LA ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% (SC1).

La evolución de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacin, tras la administración subcutánea SC1 de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin a ovejas se puede observar en la tabla 19 y en los gráficos 11 y 12.

5.3.3.1.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

Los parámetros farmacocinéticos más representativos del ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC1 a ovejas, obtenidos por análisis no compartimental, de cada animal y de las concentraciones medias, se muestran en la Tabla 21.

Al igual que comentábamos en el estudio farmacocinético del ciprofloxacino tras la administración intravenosa y subcutánea de enrofloxacin, los parámetros farmacocinéticos del ciprofloxacino, al ser un producto del metabolismo del enrofloxacin, presentan gran variabilidad inter e intraespecie.

En otras especies animales, existen estudios de ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacin con alguna fórmula de liberación controlada como es el polímero P407 en cabras (Titos, 2010). También existe un estudio realizado para el moxifloxacino en el conejo (Cárceles y cols., 2006), pero sin investigar sus metabolitos, para difloxacino en cabras (Marín y cols., 2006), y danofloxacino (Mancebo, 2011).

5.3.3.1.1.- TIEMPO DE VIDA MEDIA Y MRT.

En el caso del ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin 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 7,15 h (Tabla 21). Si lo comparamos con el obtenido para el ciprofloxacino tras la administración intravenosa de enrofloxacino (6,83 h; Tabla 30), resulta ser bastante similar aunque algo mayor. La diferencia que se observa cuando lo comparamos con el descrito en nuestro estudio para el ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacino (10,62 h; Tabla 30), es aproximadamente 0,7 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, no se convierte 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, disminuye la semivida respecto a la administración sin polímero, la semivida descrita en nuestro estudio (7,15 h; Tabla 21) 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 prácticamente idéntica a la obtenida por Davis y cols. (2007) con un valor de 7,25 h.

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 superior al del ciprofloxacino, como producto del metabolismo del enrofloxacino.

El MRT alcanza un valor de 16,78 h (Tabla 30), y es 2,6 veces mayor que el descrito para la vía intravenosa (6,36 h; Tabla 30), y también superior al obtenido vía subcutánea sin polímero (11,90 h; Tabla 30).

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 más de 2 veces (6,74 h; Rahal y cols., 2006).

5.3.3.1.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.

El $T_{m\acute{a}x}$ obtenido ha sido de 6,00 h (Tabla 21). Al compararlo con el $T_{m\acute{a}x}$ intravenoso (1,60 h; Tabla 30), observamos que es, aproximadamente, 4 veces superior. Además, es inferior al obtenido por vía subcutánea sin polímero (4,40h; Tabla 30), 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 oveja en nuestro estudio con el $T_{m\acute{a}x}$ descrito también en ovejas (1,33 h; Rahal y cols., 2006), cuando se administró enrofloxacino sin polímero, observamos que lo supera en 4,5 veces.

Valores iguales 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 enrofloxacino en formulación SC1, fue de 351,98 $\mu\text{g/L}$.

Un valor aproximado, algo menor de $C_{m\acute{a}x}$ para el ciprofloxacino fue obtenido en cabras cuando se administró una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino con polímero, 281 $\mu\text{g/L}$ (Titos, 2010).

La $C_{m\acute{a}x}$ para el ciprofloxacino obtenida en vacas cuando se administró una dosis de 8 mg/kg de enrofloxacino 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 enrofloxacino por vía intramuscular y sin polímero, podemos decir que nuestro resultado es algo mayor.

5.3.3.1.3.- ÁREA BAJO LA CURVA.

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 5966,09 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Tabla 21).

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 (2375 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$; Tabla 30) y 2 veces cuando se

administró el enrofloxacinó vía intravenosa (1361 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$; Tabla 30), si bien hay que tener en cuenta que la dosis administrada de enrofloxacinó por vía subcutánea sin polímero e intravenosa fue de 5 mg/kg.

El valor de AUC obtenido para el ciprofloxacino una vez administrado el enrofloxacinó 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 19,8 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 enrofloxacinó en ovejas. En cabras, Titos (2010) obtuvo un valor de AUC de 5520 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$, bastante parecido al obtenido en nuestro estudio.

5.4.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE ENROFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2% EN OVEJAS (SC2).

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, al igual que en las vías y formulaciones anteriores (Tabla 22). 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 enrofloxacinó en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (en adelante formulación SC2) en ovejas.

Como en ocasiones anteriores, y tras un análisis de la varianza no paramétrico (tabla 23), se ha verificado la homogeneidad de los datos obteniéndose que, la única fuente de variación es el tiempo, por lo que se manifiesta homogeneidad a un tiempo determinado en las concentraciones para todos los animales.

Para nuestro conocimiento, en la literatura no existen estudios farmacocinéticos realizados con enrofloxacinó en fórmulas de liberación controlada en ovejas, como es el caso de la formulación SC2, pero este resultado concuerda con lo que hemos encontrado con la formulación SC1. Un estudio con una formulación de moxifloxacino con P407 al 30%, es el ya comentado de Cárceles y cols. (2006) en conejos, pero realizan un análisis no compartimental. Si las hemos encontrado con otras fluoroquinolonas en cabras, enrofloxacinó (Titos Arcos 2010), danofloxacino (Mancebo 2011) y difloxacino (Escudero y cols., 2011), donde realizan análisis compartimental y no compartimental.

Para hallar la ecuación que mejor define la evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacino en la oveja, 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 parámetros calculados para cada animal, junto con los estadísticos correspondientes, deducidos a partir de las concentraciones plasmáticas experimentales, se muestran en la Tabla 24, y en la ecuación 11 se define la evolución de las concentraciones plasmáticas experimentales, en la oveja tras la administración subcutánea, de una dosis única de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC2 en oveja, adquiere el siguiente valor:

$$C = 31952 \cdot e^{-0,15 \cdot t} + 396 \cdot e^{-0,02 \cdot t} - 32349 \cdot e^{-0,2,73 \cdot t} \quad (11)$$

En los Gráficos 13 y 14, se representan las concentraciones individuales para cada animal en escala semilogarítmica, y para las medias experimentales. Puede observarse 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 14).

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 (λ_1), rige fundamentalmente los procesos de distribución, y la disposición lenta que viene dada por la constante de disposición lenta (λ_z), que rige los procesos de eliminación.

5.4.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

A continuación se van a comentar los parámetros farmacocinéticos más representativos de enrofloxacino en formulación SC2 tras su administración subcutánea a ovejas. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental para cada uno de los animales y para las concentraciones medias se muestran en las Tablas 14 y 15 para el modelo bicompartimental y el no compartimental, 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 enrofloxacino 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), al igual que en la vía intravenosa y subcutáneas anteriores. Estos valores son de 4,66 y 38,66 h, respectivamente (Tabla 24).

El $t_{1/2\lambda 1}$ (4,66 h) resulta ser casi 4 veces superior al obtenido tras la administración intravenosa (1,21 h; Tabla 3). Si lo comparamos con las administraciones subcutáneas con y sin el polímero P407 (2,24 h y 5,60 h), podemos observar que el valor de $t_{1/2\lambda 1}$ es 2 veces superior, sin embargo es menor al obtenido en la formulación SC1. Por tanto, esta formulación SC2 de enrofloxacino ralentiza el $t_{1/2\lambda 1}$ respecto a cuando se administra con la formulación SC1.

En cuanto al $t_{1/2\lambda 2}$, el valor obtenido (38,66 h; Tabla 24) resulta ser 4,8 veces superior al obtenido tras la administración intravenosa (8,11 h, tabla 3). Igualmente, si la comparamos con las vías subcutáneas sin y con el polímero P407, el resultado es 3 veces superior en el caso de la vía SC normal, y bastante parecido, aunque algo mayor al de la administración SC1. Esto puede ser indicativo de que el proceso de absorción, a diferencia de la administración subcutánea sin polímero, puede ser un factor limitante de la eliminación.

Si comparamos la semivida obtenida al administrar enrofloxacino en formulación SC2, con los valores obtenidos en el caso de enrofloxacino y otras fluoroquinolonas administradas con la formulación SC2 en cabras, el aumento de la vida media respecto a la vía intravenosa y SC sin y con polímero fue, en el caso de difloxacino de 5,23 h (IV)---5,69 h (SC)---32,36 h (SC1)---35,19 h (SC2) (Marín y cols 2010a, Escudero y cols.,2011), en el caso de enrofloxacino de 10,44 h (IV)---12,42 h (SC)---19,97 h (SC1)---48,30 h (SC2) (Titos, 2010), y para danofloxacino fue de 2,97 h (IV)---1,5 h (SC)---8,26 h (SC1)---7,47 h(SC2) (Mancebo 2011). Por lo tanto, el alargamiento de la vida media esperado en el caso de enrofloxacino está dentro del rango esperado, incluso con unos resultados satisfactorias de cara a un régimen de dosificación.

Por otro lado, el MRT alcanza un valor de 22,71 h (Tabla 25). Este parámetro es 4 veces mayor al descrito tras la administración intravenosa (5,41 h; Tabla 29). Igualmente, es casi 3 veces superior al obtenido vía subcutánea sin polímero (7,92 h; Tabla 29), y muy parecido al obtenido con el polímero P407 en la formulación SC1 (20,74 h; tabla 29).

En las Tabla 25, se presentan los valores correspondientes a los MRT y el tiempo medio de absorción (MAT) subcutáneos cuando se administró enrofloxacino en formulación SC2; en tanto que el MRT intravenoso aparece en las Tabla 4. 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 bastante superior al MRT intravenoso. Si se consideran los valores medios obtenidos, el MRT intravenoso (5,41 h) resulta ser inferior al MAT subcutáneo tras la administración de enrofloxacino en formulación SC2 (22,71 h). De ello se concluye que, en principio, la absorción, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en formulación

SC2, puede comportarse como factor limitante de la eliminación, al igual que ocurre con la administración del fármaco vía subcutánea con polímero P407.

5.4.2.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.

El $T_{m\acute{a}x}$ ha resultado ser 5,20 h (Tabla 24). Si lo comparamos con el $T_{m\acute{a}x}$ obtenido en la vía subcutánea sin polímero (3,02 h; Tabla 29), resulta ser casi 2 veces superior.

Un valor algo similar se encontró para la administración de enrofloxacinó por vía subcutánea en solución SC2 en cabras, resultando un valor de $T_{m\acute{a}x}$ de 4,33 h (Titos Arcos, 2010) y para difloxacinó de 2,9 horas (Escudero y cols.,2011). Para danofloxacinó, en la misma formulación, se obtuvo un valor inferior de 2,33h (Mancebo, 2011)

La $C_{m\acute{a}x}$, obtenida para enrofloxacinó en formulación SC2 en oveja, ha sido de 4912,25 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 25), 1,2 veces superior a la obtenida cuando se administró por vía subcutánea en formulación SC1 (3965,44 $\mu\text{g/L}$; Tabla 29); lo mismo ocurre respecto a la $C_{m\acute{a}x}$ alcanzada tras la administración subcutánea sin polímero (3944,20 $\mu\text{g/L}$; Tabla 29), e inferior a la extrapolada por vía intravenosa (17138,04 $\mu\text{g/L}$; Tabla 29). Hay que tener en cuenta que la administración del fármaco con las formulaciones sostenidas SC1 y SC2 se hizo a una dosis de 15 mg/kg, 3 veces superior a cuando se administró sin polímero.

Para enrofloxacinó y otras fluoroquinolonas administradas en cabras con la misma formulación SC2, el valor de $C_{m\acute{a}x}$ obtenido fue similar para enrofloxacinó con 2037,22 $\mu\text{g/L}$ (15 mg/kg Titos Arcos, 2010), para difloxacinó con 2670 $\mu\text{g/L}$ (15 mg/kg, Escudero y cols.,2011), y para danofloxacinó con 2830 $\mu\text{g/L}$ (18mg/kg, Mancebo 2011)

5.4.2.3.- CONSTANTE DE ABSORCIÓN Y SEMIVIDA DE ABSORCIÓN.

Tras la administración de enrofloxacinó en formulación SC2 a ovejas, se ha obtenido una constante de absorción aparente (k_a) de 0,25 h^{-1} y una vida media asociada a la misma ($t_{1/2k_a}$) de 2,73 h (Tabla 24).

Al comparar esta $t_{1/2k_a}$ y k_a con las obtenidas tras la administración subcutánea de enrofloxacinó en formulación SC1 (4,11 h y 0,17 h^{-1} ; Tabla 29) podemos observar la absorción es 1,5 veces más lenta. También existen diferencias al compararla con la $t_{1/2k_a}$ y k_a cuando se administra el fármaco vía subcutánea sin el polímero P407 (1,79 h y 0,39 h^{-1} ; Tabla 29), 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.

Para la misma formulación SC2 en cabras, con enrofloxacinó (Titos Arcos 2010), se obtuvieron unos valores de k_a de 0,33 h^{-1} y de $t_{1/2k_a}$ de 2,21 h, con la formulación SC1 fueron para

k_a de 0,31 h⁻¹ y para $t_{1/2ka}$ de 2,28 h (similares), mientras que por vía subcutánea sin polímero fueron de $k_a = 0,46$ h⁻¹ y de $t_{1/2ka} = 1,52$ h. Para danofloxacino (Mancebo 2011) se obtuvieron valores para k_a de 0,42 h⁻¹, y un $t_{1/2ka}$ de 1,68 h, mientras que por vía subcutánea con y sin polímero fueron de $k_a = 0,55$ h⁻¹ y de $t_{1/2ka} = 1,33$ h y $k_a = 0,55$ h⁻¹ y de $t_{1/2ka} = 1,34$ h (similares). Podemos observar como la absorción es más lenta para enrofloxacino cuando se administra el fármaco en formulación SC1 y SC2 (similares entre ellas), respecto a la subcutánea sin polímero. Para danofloxacino, sin embargo, la absorción es más lenta para la formulación SC2 respecto a la SC1 y subcutánea sin polímero (similares entre ellas).

5.4.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD.

El AUC, obtenida tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino en formulación SC2, alcanza un valor de 77764,91 µg·h/L (Tabla 25), ligeramente superior al obtenido con la formulación SC1 (76793,65 µg·h/L, Tabla 29) y casi dos veces superior al obtenido por vía subcutánea sin polímero (32765,34 µg·h/L, Tabla 29) a una dosis tres veces inferior.

La biodisponibilidad obtenida ha sido del 84,01 (± 21,57, Tabla 25). Como podemos observar, la asociación al polímero P407 de la carboximetilcelulosa no parece afectar a la biodisponibilidad obtenida cuando se administró el fármaco vía subcutánea en formulación SC1 82,01 % (± 22,06, Tabla 29). Si comparamos el valor descrito tras la administración vía subcutánea sin polímero 104,72% ± 24,45 (Tabla 29), observamos que en las formulaciones poliméricas existe una pérdida de biodisponibilidad de aproximadamente el 15%.

Estos resultados indican que la biodisponibilidad obtenida no parece verse afectada por la utilización, o no, de la carboximetilcelulosa como aditivo al polímero por vía subcutánea para enrofloxacino, al igual que ocurre con otras fluoroquinolonas, donde también se detecta una disminución de la biodisponibilidad, en función de la formulación SC2 y SC1 respecto a la subcutánea sin polímero. Para enrofloxacino se obtienen unos valores para la formulación SC2, SC1 y subcutánea sin polímero de 52, 83%, 55,81% y 71,00% (Titos, 2010), para difloxacino de 52,14% 72,58% y 81,74%, (Marín y cols., 2010^a, Escudero y cols., 2011), y para danofloxacino de 73,04%, 89,20% y 99,55% (Mancebo 2011).

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% (SC2).

La evolución de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino, metabolito activo de enrofloxacino, tras la administración subcutánea SC2 de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacino a ovejas se puede observar en la tabla 26 y en los gráficos 15 y 16.

5.4.3.1.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

A continuación se van a comentar los parámetros farmacocinéticos más representativos obtenidos por análisis no compartimental del ciprofloxacino tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC2 a ovejas. Estos parámetros farmacocinéticos se muestran en las Tabla 28, 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 enrofloxacin por otras vías y en formulación SC1, los parámetros farmacocinéticos del ciprofloxacino, al ser un producto del metabolismo del enrofloxacin, presentan gran variabilidad inter e intraespecífica.

También es importante señalar, la casi ausencia en la literatura de estudios farmacocinéticos, en ovejas u en otras especies animales, de ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacin en alguna fórmula de liberación retardada como es el polímero P407 o el polímero P407 + carboximetilcelulosa.

En cabras, existe un estudio de ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacin con alguna fórmula de liberación controlada como es el polímero P407 en cabras (Titos, 2010). También existe un estudio realizado para el moxifloxacin en el conejo (Cárceles y cols., 2006), pero sin investigar sus metabolitos, para difloxacin en cabras (Marín y cols., 2006), y danofloxacin (Mancebo, 2011).

5.4.3.1.1.- TIEMPO DE VIDA MEDIA Y MRT.

En el caso del ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin 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 20,61 h (Tabla 68).

El valor obtenido resulta ser 3 veces superior al obtenido tras la administración intravenosa (6,83 h; Tabla 30). Igualmente, si la comparamos con las vías subcutáneas sin y con la formulación SC1, supera en 1,9 veces la vida media del enrofloxacin administrado sin polímero (10,62 h; Tabla 30) y en 2,9 veces la vida media del enrofloxacin administrado con formulación SC1 (7,15 h; Tabla 29). Esto puede ser indicativo de que el proceso de formación del metabolito, al igual que cuando administrábamos el enrofloxacin 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 enrofloxacin cuando se utilizó la formulación SC1 o la SC2 fue el triple de la utilizada sin él.

El $t_{1/2\lambda,z}$ descrito en nuestro estudio supera ampliamente el valor encontrado en ovejas tras la administración de 5 mg/kg de enrofloxacin sin polímero (4,11 h; Rahal y cols., 2006).

Rao y cols. (2002a), dan un valor de $t_{1/2\lambda,z}$ para ciprofloxacino, cuando se administraba enrofloxacin 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 enrofloxacin en formulación SC2, es aproximadamente 22 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 enrofloxacin por vía intramuscular a cabras (1,38 h). En nuestro caso, obtenemos una $t_{1/2\lambda,z}$ también superior. La formulación SC2 aumenta la $t_{1/2\lambda,z}$ del metabolito ciprofloxacino respecto a la administración del enrofloxacin sin polímero tanto por vía intravenosa como subcutánea. La $t_{1/2\lambda,z}$ descrita en nuestro estudio (20,61 h; Tabla 28) también superior a la obtenida para el ciprofloxacino en vacas tras la administración de una dosis de 8 mg/kg de enrofloxacin 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 casi la mitad al que describimos aquí en ovejas. El $t_{1/2\lambda,z}$ del ciprofloxacino en cabras tras la administración de la misma dosis que en nuestro estudio y con la misma formulación SC2 fue de 5,28 h, 4 veces inferior a la obtenida en nuestro estudio (Titos, 2010).

Por otro lado, el MRT alcanza un valor de 21,39 h (Tabla 68), un valor 3,3 veces mayor que el MRT intravenoso (6,36 h; Tabla 30). Igualmente, es 1,8 veces superior al obtenido vía subcutánea sin polímero (11,90 h; Tabla 30) y 1,3 veces al obtenido vía subcutánea con formulación SC1 (16,78 h; Tabla 30).

Con la misma formulación SC2 en cabras y la misma dosis, Titos (2010) obtuvo un MRT de 13,08 h, unas 1,6 veces inferior al obtenido en nuestro estudio.

Si comparamos el valor obtenido de MRT cuando se administra el enrofloxacin vía subcutánea en formulación SC2, con el obtenido en otros estudios al administrarlo solo, podemos ver que es muy superior, ya que los valores de MRT oscilan entre 5,27 h también 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 enrofloxacin 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 enrofloxacin vía intramuscular (Rao y cols., 2001), el MRT (2,73 h) resultó 5,6 veces inferior.

5.4.3.1.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.

El $T_{m\acute{a}x}$, que en nuestro caso depende de la formación del metabolito, ha sido de 5,60 h (Tabla 28). Es algo inferior al $T_{m\acute{a}x}$ subcutáneo del enrofloxacin con formulación SC1 (6,00 h; Tabla 30), aunque muestran diferencias significativas ($p < 0,05$). Sin embargo, si lo comparamos con el $T_{m\acute{a}x}$ del enrofloxacin vía subcutánea sin el polímero P407, la diferencia es considerable ($p < 0,05$), siendo el valor de éste último 1,2 veces inferior (4,4 h; Tabla 29). Aún mayor es la diferencia ($p < 0,05$) al comparar con el $T_{m\acute{a}x}$ descrito tras administrar el enrofloxacin vía intravenosa, de aproximadamente 4 horas (1,6 h; Tabla 17). Así, el administrar el enrofloxacin junto con formulación SC1 o SC2 retrasa $T_{m\acute{a}x}$ de ciprofloxacino en plasma de oveja.

Valores de $T_{m\acute{a}x}$ para el ciprofloxacino menos prolongados se han obtenido en otros animales en los que se administró enrofloxacin 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 enrofloxacin de 12,5 mg/kg (6,4 h; Davis y cols., 2007).

En cuanto a la $T_{m\acute{a}x}$, obtenido para el ciprofloxacino en cabra tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC2, ha sido de 5,08 h (Titos, 2010).

Igualmente un valor inferior de $T_{m\acute{a}x}$ se ha descrito para el ciprofloxacino en cabras, cuando se administró enrofloxacin 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 moxifloxacin 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 oveja tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC2, ha sido de 186,78 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 28).

Esta $C_{m\acute{a}x}$ es aproximadamente 1,40 veces inferior a la obtenida cuando se administró el enrofloxacin vía intravenosa (260,34 $\mu\text{g/L}$; Tabla 30). Igualmente es 1,1 veces inferior a la

descrita para ciprofloxacino cuando se administró vía subcutánea sin polímero (213,11; Tabla 30), y 1,9 veces como subcutánea en formulación SC1 (351,98 $\mu\text{g/L}$; Tabla 30).

Hay que recordar que tanto la administración del enrofloxacinó 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 enrofloxacinó 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 enrofloxacinó, 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 enrofloxacinó por vía intramuscular y sin polímero, podemos decir que nuestro resultado es algo inferior. También es inferior al obtenido con la formulación SC2 por Titos (2010) en cabras a la misma dosis que en nuestro estudio (330 $\mu\text{g/L}$).

Nuestro valor de $C_{\text{máx}}$ para el ciprofloxacino sigue siendo muy superior al alcanzado en alpacas (Gandolf y cols., 2005) y en la misma especie que nuestro estudio (Rahal y cols., 2006), cuando se administró una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacinó vía subcutánea: 60 y 50 $\mu\text{g/L}$, respectivamente.

5.4.3.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA.

El AUC obtenido del ciprofloxacino, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacinó en formulación SC2, alcanza un valor de 3097,10 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Tabla 28). Es más del doble al hallado cuando administramos el enrofloxacinó vía intravenosa (1361,52 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$; Tabla 30) y subcutánea (2375,64 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$; Tabla 30) a un dosis de 5 mg/kg, casi 2,3 y 1,3 veces respectivamente. Sin embargo, es 1,9 veces inferior al descrito para ciprofloxacino cuando se administró el enrofloxacinó vía subcutánea en en formulación SC1 a la dosis de 15 mg/kg (5966,09 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$; Tabla 30).

En cuanto a la AUC, obtenido para el ciprofloxacino en cabra tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacinó en formulación SC2, ha sido de 5520 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Titos, 2010), similar al obtenido en nuestro estudio.

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 enrofloxacinó en cabras.

5.5.- COMPARACIÓN ENTRE ADMINISTRACIONES.

La disposición plasmática de enrofloxacino 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 ajustan mejor a un modelo bicompartimental abierto, existiendo en las vías extravasculares una constante de absorción de primer orden.

Las representaciones gráficas de las concentraciones experimentales (Gráfico 17 y 18) sugieren diferencias en el comportamiento del antimicrobiano en cuanto a las fases de ingreso, ya sea administrado por vía subcutánea sin polímero, ya sea administrado en formulación SC1 o SC2. Esto se refleja en un retraso de la absorción cuando se administra con alguna formulación de liberación controlada, lo cual influye en las fases de disposición, donde parece haber diferencias significativas en las pendientes de las curvas en las fases terminales. Pero para poder cuantificar esta afirmación es necesario comparar los parámetros farmacocinéticos obtenidos en cada caso, entre ellos, la semivida en la fase terminal $t_{1/2\lambda z}$, el tiempo medio de residencia MRT, la constante de absorción k_a , la concentración máxima alcanzada por vía extravascular con su tiempo asociado C_{max} y T_{max} , el tiempo medio de absorción MAT, el área bajo la curva de niveles plasmáticos AUC y la biodisponibilidad F (%).

5.5.1.- SEMIVIDA EN LA FASE TERMINAL ($t_{1/2\lambda z}$).

Puede observarse en los valores presentados en la tabla 31 que existen diferencias significativas en los valores de la semivida ($p < 0,05$) entre la vía intravenosa y las vías subcutáneas cuando se administra el fármaco sin y con formulación SC1 o SC2.

La existencia de diferencias entre las semividas medias en la fase terminal para la vía intravenosa y las extravasculares con polímero P407 puede explicarse, posiblemente, porque la fase de absorción en estas últimas influya lo suficiente en la fase de eliminación del fármaco haciendo que este se elimine más lentamente (figura 4).

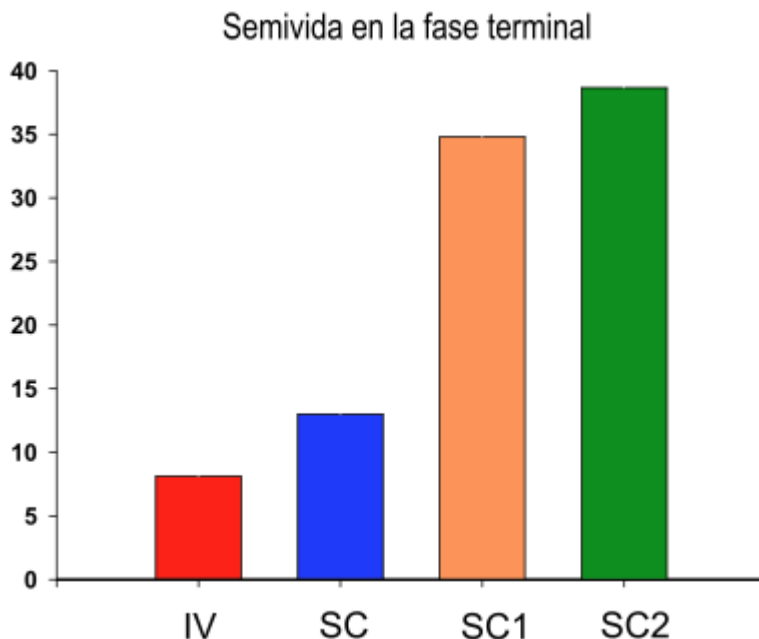


Figura 4.- Tiempos de vida media (t_{1/2λz}) obtenidos en la oveja tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

5.5.2.- TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT).

El MRT se comporta de forma diferente a las semividas descritas anteriormente. Puede observarse en la tabla 31 la existencia de diferencias significativas entre ellos ($p < 0,05$). En la tabla 29 se observa que el MRT es mayor en las vías extravasculares respecto la vía intravenosa para las administraciones subcutáneas sin y con polímero en las formulaciones SC1 y SC2, respectivamente. Esto indica que la permanencia del fármaco es mayor tras la administración subcutánea y en las dos formulaciones de liberación controlada, y como las concentraciones plasmáticas parecen descender más lentamente en la fase terminal de la curva, tras estas administraciones (gráficos 17 y 18), puede ser que la fase responsable del incremento en el MRT sea la fase de ingreso (la absorción) y no la de eliminación (disposición).

A continuación (Figura 5), se presentan de forma gráfica los valores de MRT de la vía intravenosa y subcutánea con y sin polímero:

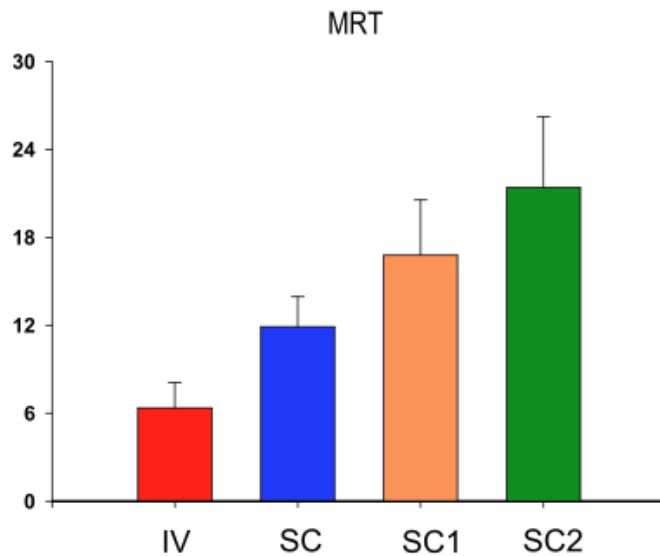


Figura 5.- Tiempo medio de residencia (MRT) obtenido en la oveja tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

5.5.3.- CONSTANTE DE ABSORCIÓN (Ka).

Cuando comparamos los resultados obtenidos en la administración subcutánea de enrofloxacino sin polímero con los obtenidos en las formulaciones controladas (Tabla 31) se encuentran diferencias significativas ($p < 0,05$). Los valores medios de la constante de absorción en las diferentes vías y formas de administración de enrofloxacino en ovejas se describen en la Tabla 29. Podemos observar que la velocidad de ingreso del fármaco (entendida como la suma de las velocidades de eliminación desde la zona de inyección, y de absorción desde dicho punto hasta la sangre, Toutain y cols, 2004a), será menor cuando se administra en formulación SC1 o SC2, de esta manera, la constante de absorción en la formulación convencional resulta 2,3 y 1,56 veces mayor que las formulaciones SC1 y SC2, respectivamente.

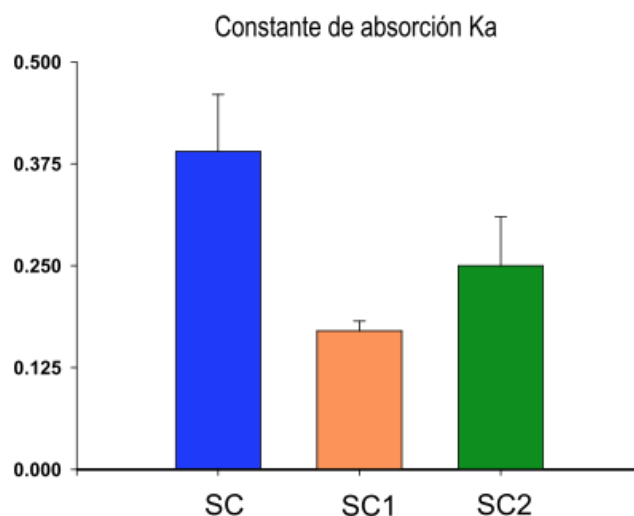


Figura 6.- Constante de absorción (k_a) obtenida en la oveja tras la administración de enrofloxacino vía subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

5.5.4.- TIEMPO MÁXIMO ($T_{m\acute{a}x}$) Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA ($C_{m\acute{a}x}$).

En la Tabla 29 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 31) que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los valores de los tiempos, pero no en los de las concentraciones ($p \geq 0,05$) con la formulación subcutánea convencional y las formulaciones retardadas. Como se puede observar, se obtienen similares $C_{m\acute{a}x}$ y un mayor $T_{m\acute{a}x}$ cuando se administra el fármaco en formulación SC1 y SC2, respectivamente, esto es lógico ya que el $T_{m\acute{a}x}$ es un parámetro independiente de la dosis administrado, mientras $C_{m\acute{a}x}$ es dependiente de la dosis, y en las formulaciones SC1 Y SC2 la dosis se triplica respecto de la IV y SC.

El mayor valor de $T_{m\acute{a}x}$ medido cuando se administra enrofloxacino en las dos fórmulas de liberación controlada, indica que el ingreso de enrofloxacino debe ser más prolongado, lo que está, a su vez, de acuerdo con los valores obtenidos para la k_a . En la figura 7 y 8, se observan las diferencias en el $T_{m\acute{a}x}$ y en la $C_{m\acute{a}x}$, respectivamente, para enrofloxacino en ovejas, entre las tres vías de administración subcutáneas.

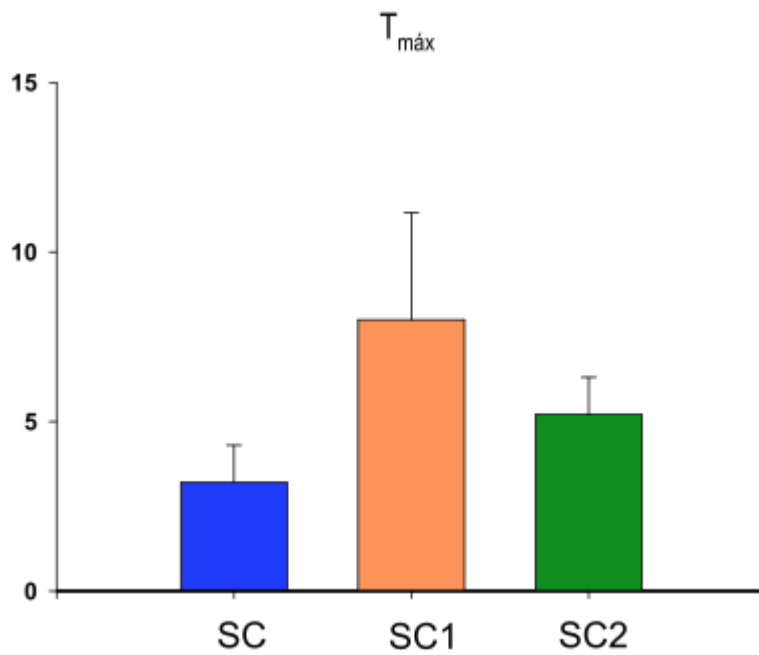


Figura 7.- Tiempo máximo ($T_{máx}$) obtenido en la oveja tras la administración de enrofloxacino vía subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

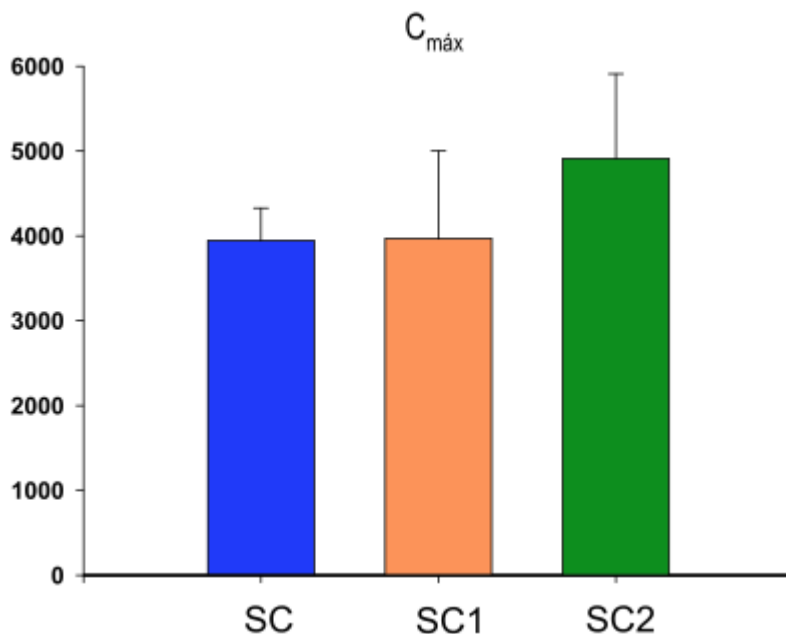


Figura 8.- Concentraciones plasmáticas máximas ($C_{máx}$) obtenidas en la oveja tras la administración de enrofloxacino vía subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

5.5.5.- TIEMPO MEDIO DE ABSORCIÓN (MAT).

En cuanto al MAT, los valores medios obtenidos tras las administraciones subcutáneas (Tabla 29) son de 3,16 h para la formulación sin polímero, de 15,33 h cuando se administra en formulación SC1 y de 17,30 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, como se ve en la figura 9. Por ello la absorción parece ser más lenta tras la administración subcutánea en alguna de las formulaciones de liberación controlada. Como resultado de esta diferencia en el ingreso del fármaco, se obtienen valores de T_{max} superiores y k_a inferiores, pero no se alcanzan valores de $C_{máx}$ significativamente distintos, aunque si más mantenidos entre 15 y 18 horas para las formulaciones SC1 y SC2 respecto a la administración sin polímero. Esto parece indicar un cierto equilibrio entre las fases de ingreso (liberación y absorción) y las de disposición (distribución y eliminación) en este intervalo de tiempo.

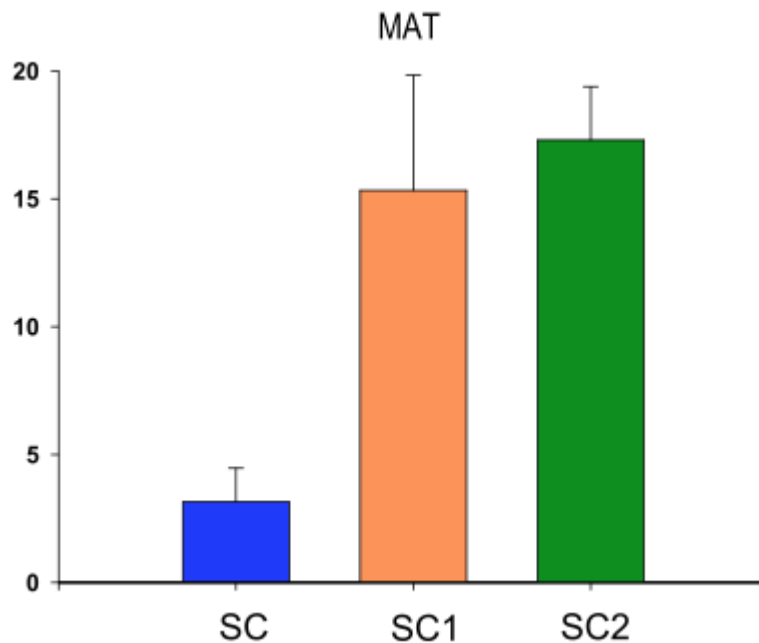


Figura 9.- Tiempo medio de absorción (MAT) obtenido en la oveja tras la administración de enrofloxacino vía subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

5.5.6.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC).

Las pruebas no paramétricas ponen de manifiesto la existencia de diferencias significativas en los valores de AUC obtenidos para enrofloxacino en oveja tras la vía intravenosa y subcutánea sin polímero, frente a las obtenidas con formulaciones SC1 y SC2 (Tabla 31). Si bien, los valores de AUC obtenidos con las dos formulaciones controladas son mayores que el AUC_{iv} , debemos tener en cuenta que eso se debe a utilizar una dosis 3 veces mayor, por lo que al corregir esos AUC_{ev} a una dosis de 5 mg/kg resultan ser similares al AUC_{iv} .

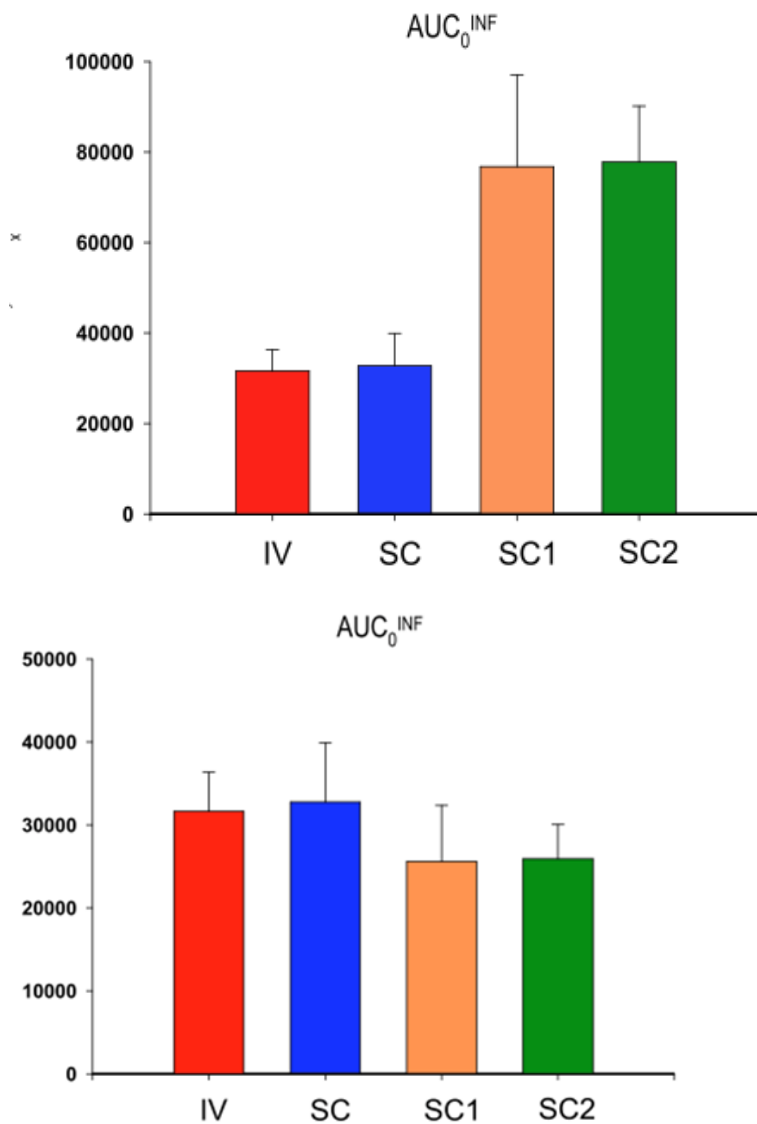


Figura 10.- Área bajo la curva de niveles plasmáticos (AUC) obtenidos en la oveja tras la administración de enrofloxacin vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg. Debajo, los valores de $AUC_{0-\infty}$ de enrofloxacin tras su administración vía SC1 y SC2, están corregidos a una dosis de 5 mg/kg*.

Al comparar los valores de AUC (Figura 10, debajo), se puede apreciar que el AUC obtenido tras la administración subcutánea sin polímero es similar a la intravenosa, pero menor a los valores de AUC obtenidos al administrarlo en formulaciones controladas. Cuando se corrigen, en función de la dosis (Figura 10, debajo), no hay diferencias entre ellos.

Llegados a este punto conviene señalar que la utilización de una dosis tres veces superior en las administraciones con formulaciones poliméricas parece ser adecuada, en efecto, a igualdad de dosis (5 mg/kg) el valor de AUC prácticamente no se modifica (la disposición en plasma es muy similar), sin embargo, el valor de $C_{m\acute{a}x}$ varía considerablemente entre las administraciones extravasculares (figuras 8 y 10 debajo). Por otro lado, cuando se administran las dos formulaciones poliméricas a dosis de 15 mg/kg, el valor de AUC varía considerablemente entre las administraciones extravasculares, pero el valor de $C_{m\acute{a}x}$ prácticamente no se modifica.

5.5.7. BIODISPONIBILIDAD (F).

La biodisponibilidad de enrofloxacinó calculada y corregida en función de la diferencia de dosis, resulta similar cuando se administra sin y con polímero tal y como se aprecia en la tabla 29. Estos resultados indican que dicho parámetro no parece afectarse por la utilización, o no, del polímero por vía subcutánea en enrofloxacinó, a diferencia de lo que ocurre con otras fluoroquinolonas en cabras, donde si se detecta una disminución de la biodisponibilidad, en función de la formulación SC2 y SC1 respecto a la subcutánea sin polímero.

- a) Enrofloxacinó SC2, SC1 y subcutánea de 52, 83%, 55,81% y 71,00% (Titos, 2010)
- b) Difloxacinó SC2, SC1 y subcutánea de 52,14% 72,58% y 81,74%, (Marín y cols., 2010^a, Escudero y cols., 2011),
- c) Danofloxacinó SC2, SC1 y subcutánea de 73,04%, 89,20% y 99,55% (Mancebo 2011) .
- d) Marbofloxacinó SC2, SC1 y subcutánea sin polímero de 113,72%, 106,69% y 81,81%.

En la figura 12, se observa de forma gráfica la no existencia de diferencias en la biodisponibilidad de las tres formulaciones subcutáneas, sin polímero P407, con polímero P407 y con polímero P407 + carboximetilcelulosa:

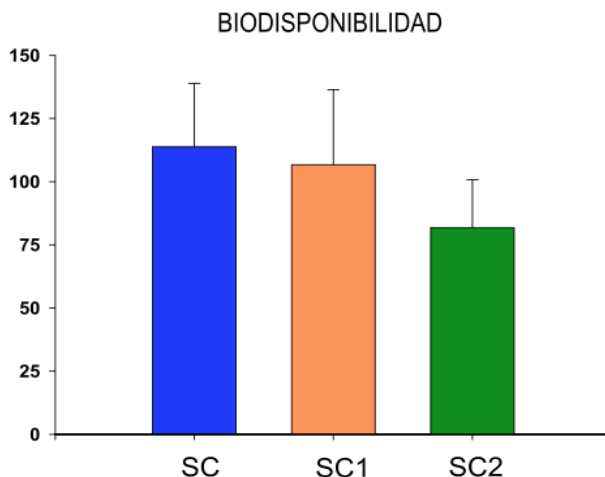


Figura 12.- Biodisponibilidad obtenida en la oveja tras la administración de enrofloxacinó vía subcutánea (SC) a una dosis de 15 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

5.6.- COMPARACIÓN ENTRE ADMINISTRACIONES (CIPROFLOXACINO).

Las representaciones gráficas de las concentraciones experimentales de ciprofloxacino (Gráficos 19 y 20), 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 controlada. 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 enrofloxacinó.

5.6.1.- TIEMPO DE VIDA MEDIA ($t_{1/2\lambda z}$).

Como se puede observar en la Tabla 32, 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 enrofloxacinó 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 enrofloxacinó sin polímero. Podemos destacar, que el $t_{1/2\lambda z}$ de ciprofloxacino cuando se administra en alguna de las formulaciones de liberación controlada (SC1 o SC2) es superior al de las vías IV y SC. De ellos, es mayor la semivida del ciprofloxacino cuando se administra el enrofloxacinó 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 30 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 enrofloxacinó (Tabla 29) ocurría igual, el $t_{1/2\lambda z}$ era superior, aunque no con tanta diferencia como en el caso del metabolito, 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.

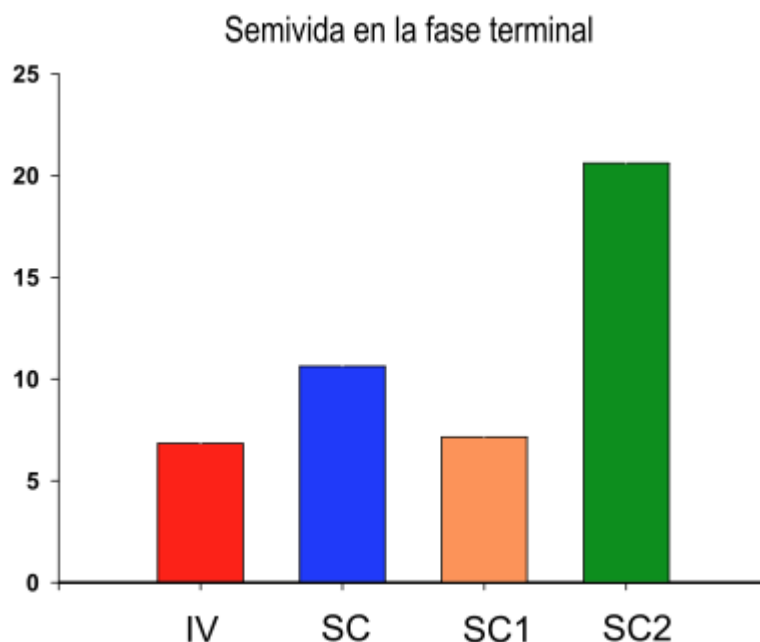


Figura 11.- Tiempos de vida media ($t_{1/2\lambda z}$) obtenidos para el ciprofloxacino en ovejas, tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

5.6.2. TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT).

El MRT del ciprofloxacino (Tablas 30), al igual que ocurría con el enrofloxacino, 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 enrofloxacino vía subcutánea en formulación SC1 o SC2. Si comparamos los valores obtenidos en la administración subcutánea de las tres formulaciones, el MRT resulta 1,4 y 1,8 veces superior tras la administración subcutánea del enrofloxacino 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 30) con el obtenido para el enrofloxacino (Tabla 29) podemos destacar que el tiempo de permanencia de ciprofloxacino en

plasma es inferior, aunque con valores muy cercanos 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:

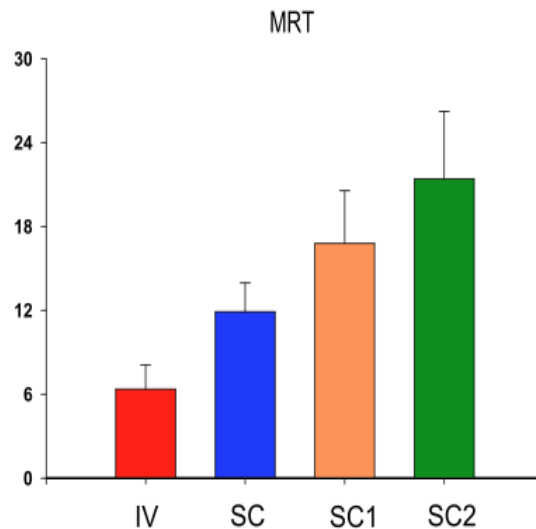


Figura 12.- Tiempo medio de residencia (MRT) obtenido en la oveja para el ciprofloxacino tras la administración de enrofloxacin vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

5.6.4. TIEMPO MÁXIMO ($T_{m\acute{a}x}$) Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA ($C_{m\acute{a}x}$).

En la Tabla 30 se observa los valores de $T_{m\acute{a}x}$ y $C_{m\acute{a}x}$ para el ciprofloxacino. En la Tabla 32 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 enrofloxacin y la administración subcutánea del enrofloxacin 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 30), 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 ($p < 0,05$).

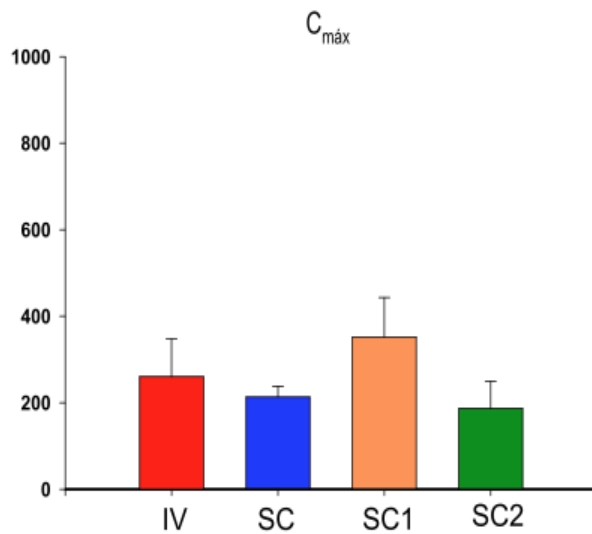


Figura 14.- Concentración plasmática máxima ($C_{máx}$) de ciprofloxacino obtenidos en la oveja tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

Por otra parte, podemos observar que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el $T_{máx}$ 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.

En la figura 15, se puede observar de forma gráfica las diferencias existentes entre las tres formulaciones subcutáneas con respecto al $T_{máx}$:

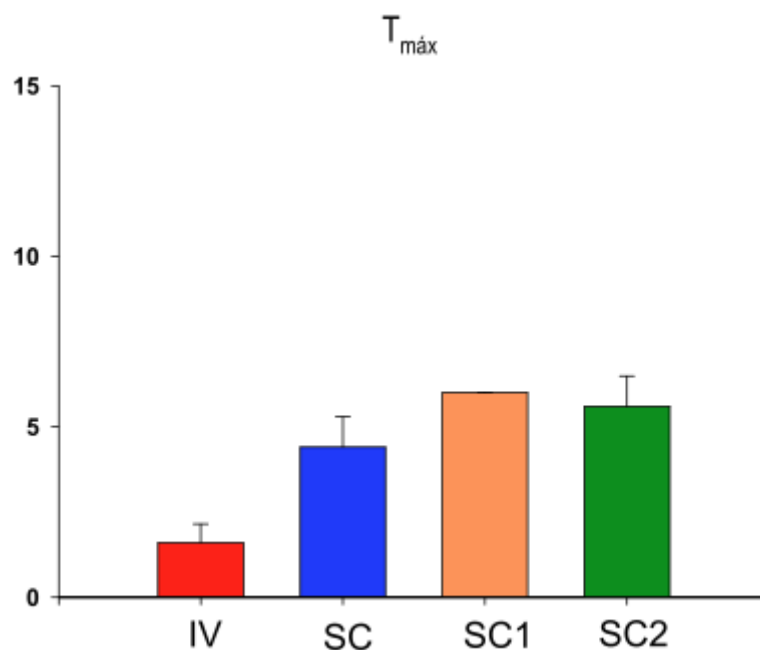


Figura 15.- Tiempo máximo ($T_{\text{máx}}$) del ciprofloxacino obtenidos en la oveja tras la administración de enrofloxacinó vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

5.6.5.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC).

El AUC intravenoso del ciprofloxacino es significativamente superior ($p < 0,05$) al obtenido con la formulación SC2. En la siguiente figura (16), se observa de forma gráfica las diferencias existentes en el AUC para el ciprofloxacino en ovejas, entre la vía intravenosa y subcutánea con y sin polímero:

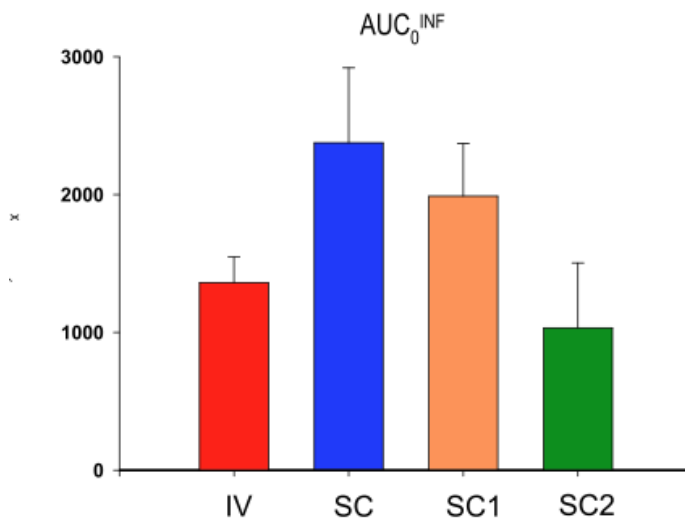


Figura 16.- Área bajo la curva de niveles plasmáticos (AUC) obtenidos en la oveja para el ciprofloxacino tras la administración de enrofloxacinó vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

5.7.- 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 oveja tiene un rango entre 6,6 y 6,8, muy cercano al punto isoeléctrico del enrofloxacin, por lo cual pasa de la sangre a la leche y queda retenido por un mecanismo de captación iónica mostrando así una amplia penetración en la ubre (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).

Otros estudios sobre penetración en leche de fluoroquinolonas son moxifloxacino (Fernández-Varón y cols 2006a), danofloxacino (Escudero y cols., 2007), difloxacino (Marín y cols., 2007c, Marín y cols., 2010a, Escudero y cols., 2011), orbifloxacino (Marín y cols., 2007a), ibafloxacino (Marín y cols., 2007b) y levofloxacino (Goudah y cols 2008). En estos casos se ha detectado fármaco en leche hasta desde un mínimo de 6h en ibafloxacino, hasta un máximo de 48 en difloxacino.

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 oveja tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin vía intravenosa se muestra en el Gráfico 57, en el que se pueden detectar concentraciones de ambos hasta las 32 h posteriores a la administración del enrofloxacin, en el caso del ciprofloxacino se observan concentraciones hasta las 48 horas. En un estudio realizado por Haritova (2003) vía intravenosa e intramuscular en ovejas se detectaron concentraciones de enrofloxacin en leche hasta las 24 horas, 8 h menos que en nuestro estudio.

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.

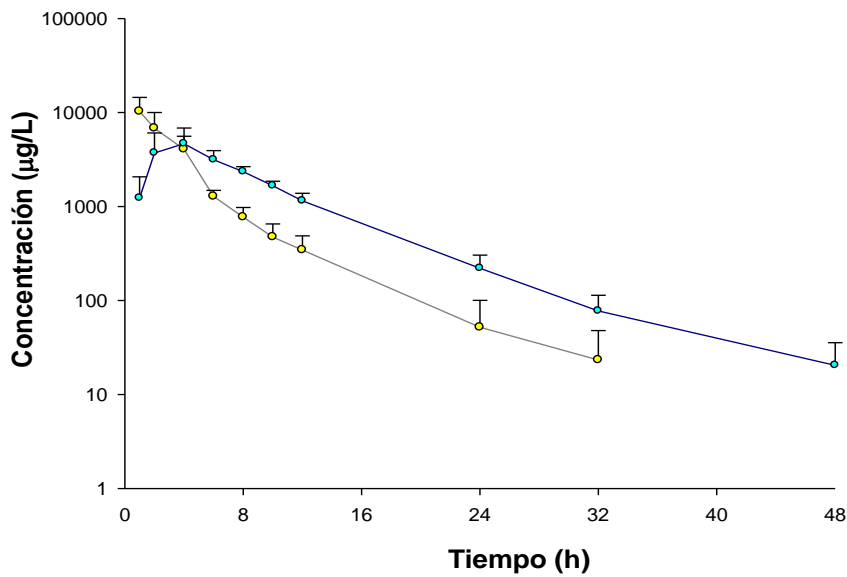


GRÁFICO 57.-PROMEDIO ENRO Y CIPRO-IV- LECHE. Promedio Concentraciones en Leche de enrofloxacin (Gris) y de ciprofloxacino(Azul).

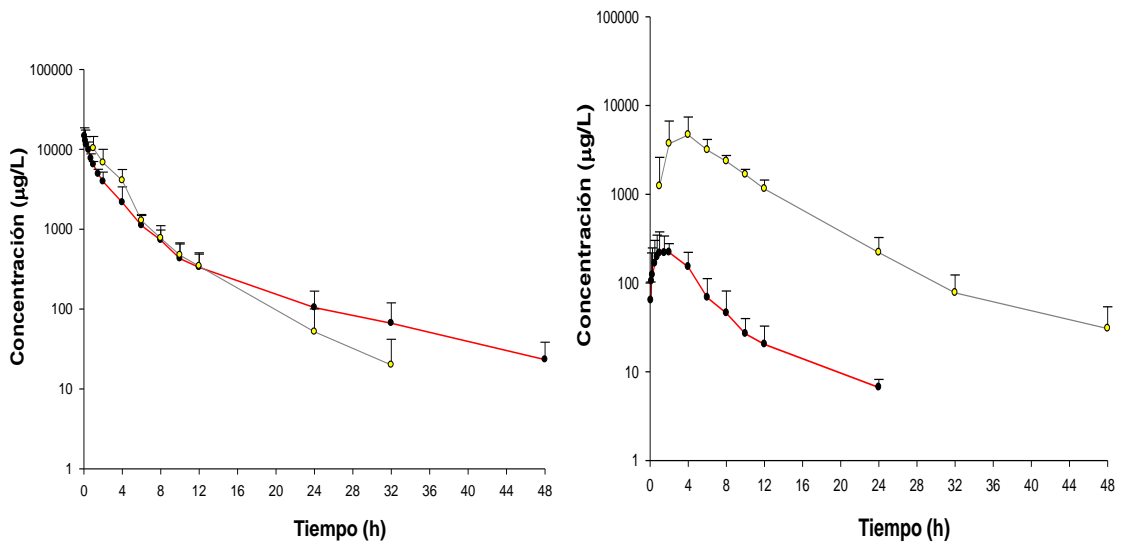


Gráfico 21 y 25.- MEDIA ENROFLOXACINO IV-PLASMA-LECHE (21) y DE CIPROFLOXACINO IV PLASMA- LECHE (25). Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de enrofloxacin y de ciprofloxacino obtenidas en plasma (*línea roja*), y en leche (*línea gris*), tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg a ovejas.

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 21 y 25, respectivamente. En el gráfico 21 se puede observar cómo las concentraciones plasmáticas son superiores a las encontradas en leche y persisten durante mayor tiempo, siendo inferiores únicamente durante las primeras 4 horas tras la administración. En el Gráfico 25, 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 48 horas en leche, frente a las 24 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 48 horas después de la administración del enrofloxacin en ovejas.

En la Tablas 36 y 40, 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 KRUSKAL-WALLIS (Tablas 34 y 38), revelan que los parámetros son homogéneos y no existen diferencias significativas para un mismo parámetro.

5.7.1.1.- 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.

En la leche, el MRT alcanza un valor de 4,31h para el enrofloxacin (Tabla 36) y 9,15 h para el ciprofloxacino (Tabla 40). Si comparamos estos valores con los hallados en plasma, 5,41 y 6,36 h (Tablas 29 y 30), respectivamente, podemos deducir que las concentraciones alcanzadas en leche resultan ser más persistentes que las plasmáticas para el ciprofloxacino, siendo menores que las plasmáticas en el enrofloxacin.

En el estudio de Haritova (2003) se describió un MRT de 8,40 horas vía intravenosa, siendo superior al detectado en nuestro estudio.

En vacas, tras la administración de una dosis de enrofloxacin de 5 mg/kg de enrofloxacin 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 enrofloxacin, 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 oveja.

En cabras se describió un MRT de 4,30 y de 5,94 para enrofloxacino y ciprofloxacino en leche (Titos, 2010). Estos valores son ligeramente inferiores a los estudiados, por ello las concentraciones alcanzadas en la oveja 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 enrofloxacino en oveja obtenido ha sido de 1,00 h y de 4,40 h en el ciprofloxacino (tablas 36 y 40).

El $T_{m\acute{a}x}$ obtenido en el estudio de Haritova fue superior al de nuestro estudio, concretamente de 4,00h para enrofloxacino.

El $T_{m\acute{a}x}$ del enrofloxacino en otras especies como en cabra fue superior (1,6 y 2h) en el estudio de Titos (2010) y de (0,77 h y de 8h) en el estudio de Malber y cols.

Así, para otras fluoroquinolonas en ovejas como moxifloxacino, orbifloxacino, difloxacino, se obtuvieron valores superiores, concretamente de 2 h, 1,83 h, 1,6h y 1,16h respectivamente (Fernández-Varón y cols., 2006a; Marín y cols., 2007^a y P Marín y cols., 2010a).

El $C_{m\acute{a}x}$ obtenido en leche, para el enrofloxacino en oveja tras la administración de una dosis de 5 mg/kg, ha sido de 10281,50 μ g/L (Tabla 36), y para su metabolito ciprofloxacino, ha sido de 4882,08 μ g/L (Tabla 40), algo superior.

En ovejas cuando se administró difloxacino vía intravenosa, a una dosis de 5 mg/kg, se obtuvo una $C_{m\acute{a}x}$ de 2120 μ 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 μ g/L, cuando se administró una dosis de 5 y 2,5 mg/kg, respectivamente (Fernández-Varón y cols., 2006a; Marín y cols., 2007a).

En el estudio de Haritova (2003) se obtuvo una $C_{m\acute{a}x}$ en leche de 2380,00 μ g/L, muy inferior a la obtenida en nuestro estudio, pero con una dosis de 2,5mg/kg. Por ello, en proporción sería una concentración máxima de la mitad relativamente a la obtenida en nuestro estudio,

En cuanto a la $C_{m\acute{a}x}$ en leche en otras especies podemos encontrar en cabra valores de concentración máxima inferiores (2354,63 y 2728,04) en el estudio de Titos Arcos (2010).

En cuanto al valor de $C_{m\acute{a}x}$ para otras fluoroquinolonas podemos encontrar el obtenido con difloxacino, a una dosis de 5 mg/kg, (2120 μ g/L, Marín y cols., 2007c). Para otras fluoroquinolonas como moxifloxacino y orbifloxacino, han sido reportados valores de $C_{m\acute{a}x}$ de 3656,19 y 1560 μ 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 $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$.

Otro parámetro de interés es el área bajo la curva de concentración en leche-tiempo (AUC_{leche}), obtenido tras la administración intravenosa del enrofloxacin a una dosis de 5 mg/kg, que alcanza un valor de 30824,10 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ para el enrofloxacin (Tabla 36) y 37918 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ para su metabolito ciprofloxacino (Tabla 40).

En vacas, al administrar vía intravenosa una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, el AUC para el enrofloxacin fue 6633,33 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ y para el ciprofloxacino 15833,33 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Malbe y cols., 1996). En cabras, al administrar vía intravenosa una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, el AUC para el enrofloxacin alcanza un valor de 9292,28 para enrofloxacin y de 17510,75 en el ciprofloxacino. Como podemos observar, igual que ocurre en nuestro estudio, el AUC para el ciprofloxacino es superior al del enrofloxacin en ambas especies.

Otros estudios realizados en ovejas y para otras fluoroquinolonas, muestran valores de AUC 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 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$, inferiores 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 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Marín y cols., 2007a). Un valor de 9260 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$, ha sido descrito para perfloxacino en ovejas, al administrar una dosis de 10 mg/kg (Abd El-Aty y Goudah, 2002).

El AUC también nos permite, estimar la penetración de enrofloxacin y de su metabolito, ciprofloxacino, en leche tras la administración de una dosis de mg/kg vía intravenosa. Para ello se calcula el ratio que relaciona las AUC en leche/plasma del fármaco, obtenidas tras su administración intravenosa. El valor de dicha ratio $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ ha sido de $1,16 \pm 0,18$ y de $29,50 \pm 5,75$ vía intravenosa, valores que indican que la penetración en leche del enrofloxacin es baja, al contrario que ocurre con el ciprofloxacino, que podría acumularse en leche tras dicha administración.

Si se compara con otros estudios, en el estudio de Haritova se obtiene un valor de AUC_{leche} de 23760 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ al administrar una dosis de 2,5mg/kg, inferior al de nuestro estudio (teniendo en cuenta que la dosis administrada es la mitad de la dosis del presente estudio) y obteniendo una relación $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ de $5,62 \pm 0,30$ en el enrofloxacin, que tendría una penetración en leche mayor de la obtenida en el estudio actual.

En otras especies como vacas (Malbe y cols., 1996) y cabras (Titos, 2010), los valores obtenidos 0,43 y 8,99, indicarían una pobre penetración en leche del enrofloxacin y una alta penetración del metabolito ciprofloxacino, pudiendo haber acumulación en leche,

En el caso de ibafloxacino en cabras, se ha descrito un valor de $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}} = 0,2$ inferior al descrito en nuestro estudio, siendo su penetración mucho menor (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

AUC_{leche}/AUC_{plasma} fueron de 3,33, 1,86 y 1,02, respectivamente; valores que hacen pensar en una penetración en leche buena o parecida.

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 0,84% y un 0,63%, respectivamente, de la dosis administrada (Tablas 36 y 40).

No hemos encontrado estudios previos de la cantidad total excretada en leche en oveja a nuestro estudio.

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). En cabras se obtuvo un valor de 0,27% y 0,35% respectivamente, inferiores a los de nuestro estudio.

Valores inferiores 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.- EVOLUCI3N DE LAS CONCENTRACIONES DE ENROFLOXACINO Y CIPROFLOXACINO EN LECHE: ADMINISTRACI3N SUBCUT3NEA DE ENROFLOXACINO.

La evoluci3n de las concentraciones medias (media \pm SD) experimentales de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacin, obtenidas en leche de oveja tras la administraci3n de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin v3a subcut3nea se muestra en el Gr3fico 58, en el que se pueden observar concentraciones de ambos hasta las 48 h posteriores a la administraci3n del enrofloxacin, como ocurr3a tras su administraci3n intravenosa en el ciprofloxacin, as3 como se observan concentraciones durante mayor tiempo en el enrofloxacin(Gr3fico 57).

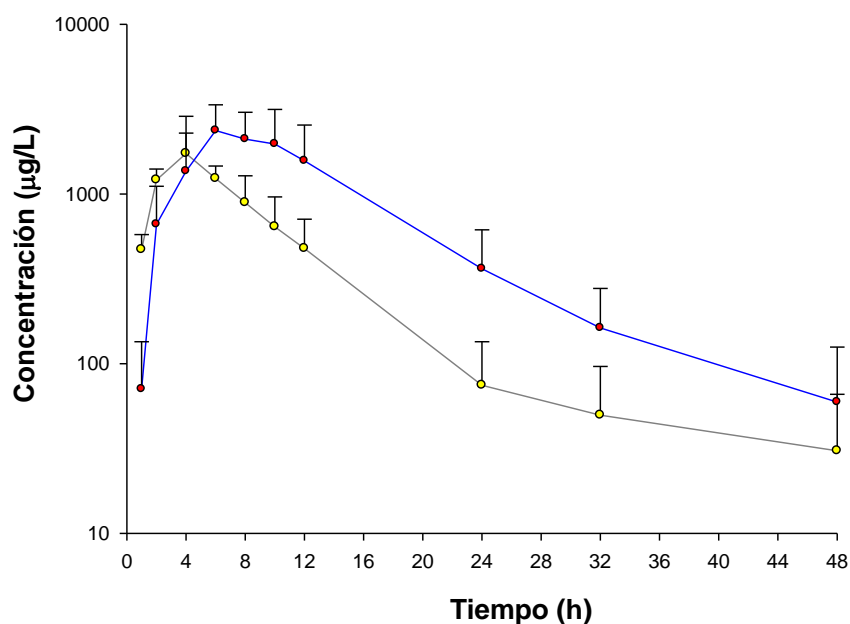
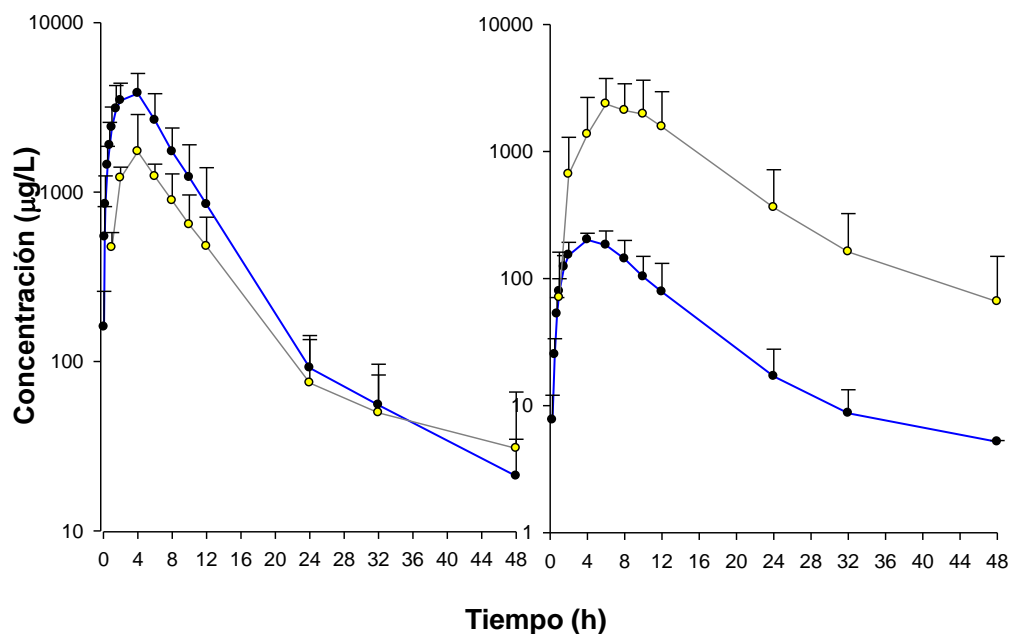


GRÁFICO 58.-PROMEDIO CONCENTRACIONES ENRO Y CIPRO-SC- LECHE: Se representan los valores medios en leche de enrofloxacino (línea gris) y ciprofloxacino (línea azul) tras la administración por vía subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacino.



GRÁFICOS 31 Y 35: MEDIA EN PLASMA Y LECHE DE ENRO Y CIPRO- SC: En los gráficos anteriores se representan las concentraciones promediadas obtenidas tras la administración de una dosis de 5mg/kg de enrofloxacino por vía subcutánea en plasma (línea gris) y leche (línea azul) para enrofloxacino (gráfico 31) y para ciprofloxacino (gráfico 35).

En la Tablas 44 y 48, 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 KRUSKAL-WALLIS (Tablas 42 y 46), revelan que las concentraciones de enrofloxacino y de ciprofloxacino detectadas en leche, a sus correspondientes tiempos de ordeño, no varía entre animales, pero si entre tiempos.

Los valores de concentraciones individuales y medias (media \pm SD) de enrofloxacino en leche y plasma se representan junto a las concentraciones individuales y medias plasmáticas (media \pm SD) en los Gráficos 31 y 32, respectivamente. Podemos observar que, las concentraciones en leche, son ligeramente inferiores a las concentraciones en plasma hasta las 32h, en el enrofloxacino, momento a partir del que las concentraciones en leche aumentan con respecto a las plasmáticas.

Los valores de concentraciones individuales y medias (media \pm SD) de ciprofloxacino en leche y plasma se representan junto a las concentraciones individuales y medias plasmáticas (media \pm SD) en los Gráficos 35 y 36, respectivamente. Las concentraciones de ciprofloxacino a partir de las 4 h son muy superiores a las concentraciones obtenidas en plasma y permanecen en un nivel superior a lo largo del tiempo.

Según nuestras referencias no hemos encontrado estudios de enrofloxacino en leche por vía subcutánea en oveja, aunque sí en otras especies como cabra: Titos(2010), en la que se detectan concentraciones de enrofloxacino en leche hasta las 32 h, inferiores a las obtenidas en el presente estudio. En cabras, de modo similar al nuestro, las concentraciones plasmáticas en plasma de enrofloxacino superan a las obtenidas en leche y en el metabolito ciprofloxacino, de la misma manera, las concentraciones en leche superan a las concentraciones obtenidas en plasma.

Por ello podemos concluir que el ciprofloxacino presenta una acumulación en leche y que el enrofloxacino presenta una excreción en leche más bien baja.

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 8,63h para el enrofloxacino (Tabla 44) y de 13,13h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 48). Si nos fijamos bien, estos valores son superiores a los que se hallaron para la vía intravenosa (4,31 y 9,15h respectivamente). Por tanto, se deduce

que las concentraciones alcanzadas en leche por la vía subcutánea son más persistentes que por la vía intravenosa. De forma análoga a la vía intravenosa las concentraciones en leche de ciprofloxacino permanecen más tiempo en leche que en plasma a lo largo del tiempo.

Además, podemos comparar estos valores de MRT obtenidos en leche con los hallados en plasma, que fueron de 7,92 y 11,90 h (Tablas 29 y 30), para enrofloxacin y ciprofloxacino, respectivamente. Como se puede observar, las concentraciones de enrofloxacin y de ciprofloxacino en leche resultan ser más persistentes que las plasmáticas, como ocurría en la vía intravenosa en el caso del ciprofloxacino, pero de forma opuesta a lo acontecido en el enrofloxacin.

Este parámetro lo podemos comparar con lo acontecido en otras especies como cabras (Titos, 2010), con valores de 5,23 h para el enrofloxacin y de 7,64 h para su metabolito, ciprofloxacino, inferiores a los obtenidos en nuestro estudio.

5.7.2.2.- TIEMPO MÁXIMO ($T_{m\acute{a}x}$) Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA ($C_{m\acute{a}x}$).

El $T_{m\acute{a}x}$ obtenido experimentalmente ha sido de 4 h para enrofloxacin (Tabla 44) y 7,20h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 48). 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.

Para otras fluoroquinolonas administradas en cabras vía subcutánea, se han descrito valores de $T_{m\acute{a}x}$ en leche inferiores o similares a los descritos en nuestro estudio. Así, se obtuvo un valor inferior por la misma vía de administración con orbifloxacin (2 h) (Marín y cols., 2007); moxifloxacin (3,33 h) (Fernández-Varón y cols., 2006a), enrofloxacin en cabras (3,2 h) (Titos Arcos., 2010) y para difloxacin se obtuvo un valor similar (4 h) (Marín y cols., 2007c).

En cuanto a la $C_{m\acute{a}x}$ en leche, el valor obtenido fue de 1732,17 $\mu\text{g/L}$, ligeramente superior al intravenoso (10281,50 $\mu\text{g/L}$, tabla 30), pero similar al obtenido para orbifloxacin en leche de 1730 $\mu\text{g/L}$ (Marín y cols., 2007a), y comparable también con el obtenido para enrofloxacin de 1679,98 $\mu\text{g/L}$ (Titos Arcos 2010). Este último resultado de $C_{m\acute{a}x}$ es inferior al obtenido por vía intravenosa de 2354,63 $\mu\text{g/L}$ (Titos Arcos 2010). Igual ocurre con otras quinolonas administradas en cabras por las dos vías, concretamente con moxifloxacin y difloxacin. Para el primero su $C_{m\acute{a}x}$ hallada en leche fue de 3656,19 $\mu\text{g/L}$, mientras que cuando se administró vía subcutánea fue de 3216,68 $\mu\text{g/L}$ (Fernández-Varón y cols., 2006a). Para el segundo se obtuvo un valor de $C_{m\acute{a}x}$ en leche 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, moxifloxacin y difloxacin, son superiores e inferiores, respectivamente, con respecto al valor obtenido en nuestro estudio para marbofloxacino.

Los resultados de $T_{m\acute{a}x}$ para enrofloxacin y ciprofloxacino tras la administración subcutánea de enrofloxacin son superiores en 4 y 1.6 veces respectivamente, a los obtenidos tras su

administración intravenosa, los cuales fueron de 1 h para enrofloxacin (Tabla 29) y 4,4 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 30).

En cuanto a la $C_{m\acute{a}x}$ en leche, el valor obtenido para el enrofloxacin en oveja tras la administraci3n de una dosis de 5 mg/kg ha sido de 1732,17 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 44), y para su metabolito, ciprofloxacino, ha sido de 2506,39 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 48), 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 administraci3n intravenosa de enrofloxacin, los cuales fueron de 10281,50 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 36) y 4882,08 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 40), respectivamente. Igual ocurre con otras quinolonas administradas en ovejas por las dos v\edas, concretamente con moxifloxacino y danofloxacino (C\arceles y cols., 2006; Escudero y cols., 2007).

5.7.2.3.- \u00c1REA BAJO LA CURVA (AUC) y RATIO AUC_{leche}/AUC_{plasma} .

El \u00e1rea bajo la curva de concentraci3n en leche-tiempo (AUC), obtenido tras la administraci3n subcut\u00e1nea del enrofloxacin a una dosis de 5 mg/kg, alcanza un valor de 15251,71 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ para el enrofloxacin (Tabla 44) y 30740,47 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 48), valores inferiores a los descritos para la v\eda intravenosa, los cuales fueron de 30824 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Tabla 36) y 37918 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Tabla 40).

Si se compara con otras fluoroquinolonas en cabras, ocurre lo mismo, para enrofloxacin a una dosis de 5 mg/kg, alcanza un valor de 9999,04 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ y para la v\eda intravenosa de 9292,28 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ (Titos Arcos 2010). De la misma manera, para orbifloxacino en ambas v\edas el $AUC_{leche\ iv} = 6360 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ y el $AUC_{leche\ sc} = 7580 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$; (Mar\edn y cols., 2007a). Pero tambi\u00e9n ocurre lo contrario, para difloxacino v\eda subcut\u00e1nea, se describi3n un valor de AUC en leche de 114600 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ frente a los 15100 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ intravenosos (Mar\edn y cols., 2010a).

El AUC tambi\u00e9n nos permite, al igual que en la v\eda intravenosa, estimar la penetraci3n de enrofloxacin en leche tras la administraci3n de una dosis de 5 mg/kg v\eda subcut\u00e1nea. Para ello se calcula el ratio que relaciona las AUC en leche/plasma del f\u00e1rmaco, obtenidas tras su administraci3n subcut\u00e1nea. El valor de dicha ratio AUC_{leche}/AUC_{plasma} ha sido de $0,48 \pm 0,09$ para enrofloxacin, y de $12,42 \pm 2,92$ para ciprofloxacino. El resultado obtenido indica la amplia penetraci3n y mayor facilidad del metabolito ciprofloxacino para acceder a la leche respecto a enrofloxacin.

5.7.2.4.- RATIO $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$.

Otro par\u00e1metro que nos permite estimar la penetraci3n del f\u00e1rmaco en leche, al igual que la ratio AUC_{leche}/AUC_{plasma} , es la ratio $C_{m\acute{a}x-leche}/C_{m\acute{a}x-plasma}$ tras la administraci3n de una dosis

de 5 mg/kg vía subcutánea. Para ello se calcula la ratio que relaciona las $C_{\text{máx}}$ en leche obtenidas tras la administración subcutánea con las $C_{\text{máx}}$ plasmáticas del fármaco.

El valor de la ratio $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma}}$ ha sido de 0,44 para enrofloxacin y de 11,52 para ciprofloxacino, y al igual que la ratio $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$, nos indicaría que la penetración en leche no es muy elevada para enrofloxacin, pero en el caso del metabolito la penetración es bastante extensa, incluso puede existir cierta acumulación.

Ratios superiores a las descritas por nosotros han sido publicadas para moxifloxacin, orbifloxacin y difloxacin, tras ser administradas vía subcutánea en cabras. Estas ratios fueron de 1,87, 0,95 y 0,90, respectivamente (Fernández-Varón y cols., 2006; Marín y cols., 2007; Marín cols., 2007).

5.7.2.5.- CANTIDAD TOTAL ELIMINADA EN LECHE.

La cantidad total eliminada en leche tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, ha supuesto un 0,27% para enrofloxacin y un 0,60% para ciprofloxacino, respectivamente, de la dosis administrada, frente al 1% intravenoso.

Valores inferiores a los descritos en nuestro estudio, han sido reportados para otras fluoroquinolonas administradas en otros pequeños rumiantes como en cabras. La cantidad total de enrofloxacin eliminada en leche tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin, han supuesto un 0,24% frente al 0,27% hallado para la vía intravenosa (Titos Arcos 2010). Valores similares han sido reportados para moxifloxacin y difloxacin, tras administrar una dosis de 5 mg/kg, la cantidad total de fármaco eliminada en leche fue de 0,29% y 0,35%, respectivamente (Fernández-Varón y cols., 2006a; Marín y cols., 2007c). En el caso de orbifloxacin, se ha eliminado una cantidad en leche de 0,32% tras administrar una dosis de 2,5 mg/kg (Marín y cols., 2007a). Estos valores también son similares a los obtenidos cuando se administraron las mismas quinolonas por vía intravenosa (0,21%, 0,46% 0,28% respectivamente). Sin embargo, la alta penetración y picos de concentración máxima conseguidos con ciprofloxacino no han sido constatados para ninguna fluorquinolona ni especie en la bibliografía.

5.7.3.- EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ENROFLOXACINO Y CIPROFLOXACINO EN LECHE: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% (SC1).

La evolución de las concentraciones medias (media \pm SD) experimentales de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacino, obtenidas en leche de oveja tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC1 vía subcutánea

se muestra en el Gráfico 59, en el que se pueden observar concentraciones de enrofloxacin y ciprofloxacino en leche hasta las 132 h posteriores a la administración del enrofloxacin. 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 48 h posteriores a la administración del enrofloxacin (Gráficos 37 y 38).

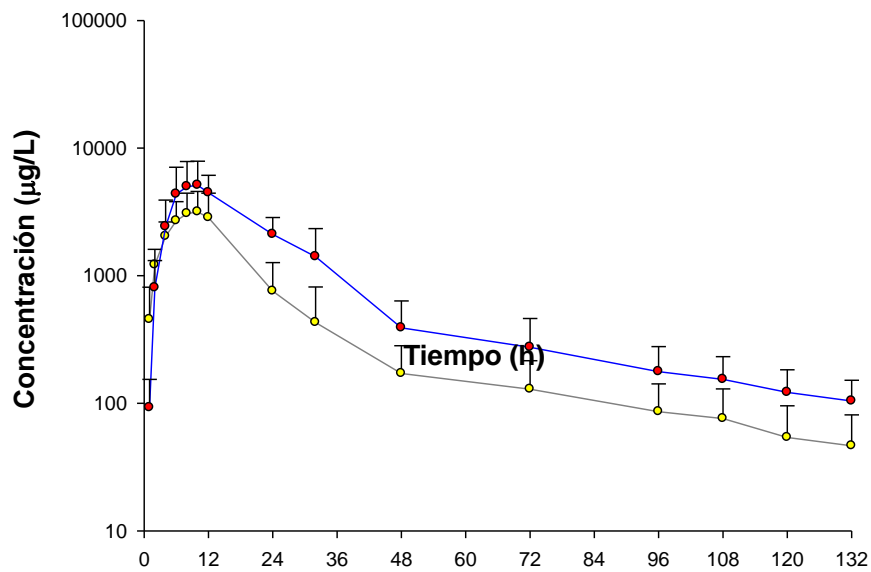
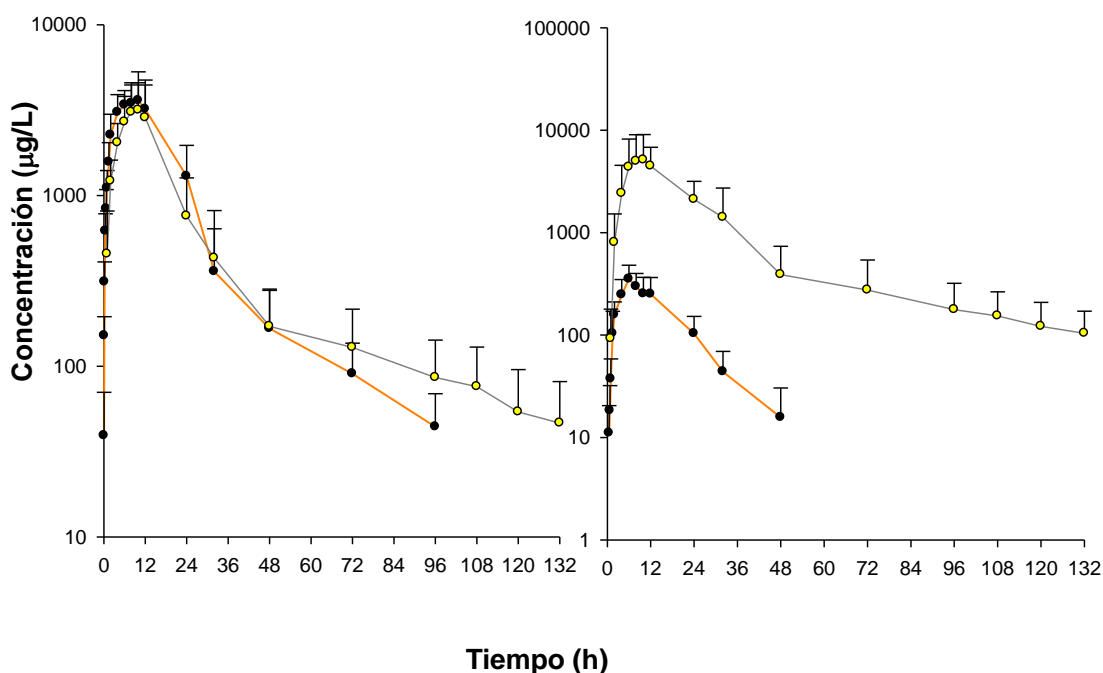


GRÁFICO 59.-PROMEDIO CONCENTRACIONES ENRO Y CIPRO-SC1- LECHE: Se representan los valores medios en leche de enrofloxacin (línea gris) y ciprofloxacino (línea azul) tras la administración por vía subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25%(SC-1)



GRÁFICOS 39 Y 42: MEDIA EN PLASMA Y LECHE DE ENRO Y CIPRO- SC1: En los gráficos anteriores se representan las concentraciones promediadas obtenidas tras la administración de una dosis de 15mg/kg de enrofloxacin por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% en plasma (línea gris) y leche (línea azul) para enrofloxacin (gráfico 31) y para ciprofloxacino (gráfico 35).

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 39 y 42, respectivamente. Podemos observar como en el caso del enrofloxacin (Gráfico 39), las concentraciones plasmáticas son superiores pero se detectan hasta las 96 h posteriores a la administración del enrofloxacin, mientras en leche las concentraciones se prolongan hasta las 132 horas. 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 132 horas en leche, frente a las 48 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. Un fenómeno similar fue descrito para esta formulación SC1 por Titos y cols. (2010) para el mismo fármaco en cabras.

En la Tablas 52 y 56, 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. En las tabla 50 y 54 se incluyen los resultados del análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) que indican que las concentraciones de enrofloxacino detectadas en leche, a sus correspondientes tiempos de ordeño, no varía entre animales, pero si entre tiempos.

Para nuestro conocimiento, sólo existen en la literatura estudios farmacocinéticos de las concentraciones de enrofloxacino y difloxacino en leche de cabras, tras su administración en fórmulas de liberación controlada como es el polímero P407, por lo que los parámetros farmacocinéticos obtenidos se referían a esas publicaciones (Titos Arcos 2010, Marín y cols 2010)

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 29,83 h para el enrofloxacino (Tabla 52) y 37,46 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 56).

Respecto al enrofloxacino, el valor de MRT obtenido en leche tras su administración en formulación SC1 es superior en 7 veces al descrito para la vía intravenosa (4,31 h; Tabla 80) y en 3,45 veces al hallado tras su administración subcutánea sin polímero (8,63 h; Tabla 64). 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 4 y 2,8 veces superiores a los hallados vía intravenosa y subcutánea sin polímero, respectivamente (9,15 y 13,13 h; Tablas 64 y 67). 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 20,74 y 16,78 h (Tablas 29 y 30), 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 9,6 h para enrofloxacino (Tabla 52) y 10,40 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 56).

Los resultados de $T_{m\acute{a}x}$ para enrofloxacin y ciprofloxacino tras la administraci3n subcutánea de enrofloxacin en soluci3n del polímero P407 al 25% (SC1) son superiores en 9,6 y 2,4 veces respectivamente, a los obtenidos tras su administraci3n intravenosa, los cuales fueron de 1 h para enrofloxacin (Tabla 64) y 4,4 h para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 67). Igualmente ocurre si los comparamos con los valores de $T_{m\acute{a}x}$ para enrofloxacin y ciprofloxacino tras la administraci3n subcutánea de enrofloxacin sin polímero, aunque la diferencia es inferior. Estos valores (4 y 7,2 h; Tablas 64 y 67) serían 2,4 y 1,4 h veces inferiores a las descritas tras administrar el enrofloxacin en formulaci3n SC1.

En cuanto a la $C_{m\acute{a}x}$ en leche, el valor obtenido para el enrofloxacin en soluci3n del polímero P407 al 25% (SC1) en ovejas tras la administraci3n de una dosis de 15 mg/kg ha sido de 3218,96 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 52), y para su metabolito, ciprofloxacino, ha sido de 5277,92 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 56), valor superior al de enrofloxacin como ocurría en anteriores vías.

En el presente estudio la $C_{m\acute{a}x}$ en leche para enrofloxacin cuando se administra por vía subcutánea en formulaci3n SC1 (3218,96 $\mu\text{g/L}$) es 3 veces inferior a la alcanzada cuando se administr3 enrofloxacin vía intravenosa a una dosis de 5 mg/kg, la cual fue de 10281,50 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 64). Sin embargo, respecto a la vía subcutánea sin polímero, la $C_{m\acute{a}x}$ alcanzada en leche por el enrofloxacin cuando se administra por vía subcutánea en formulaci3n SC1 es 1,8 veces superior a la concentraci3n alcanzada tras la administraci3n subcutánea sin polímero (1732,17 $\mu\text{g/L}$; Tabla 64), teniendo en cuenta que la administraci3n del enrofloxacin en formulaci3n SC1 se hizo a una dosis de 15 mg/kg, en lugar de 5 mg/kg en el caso del enrofloxacin sin polímero.

En cuanto a los resultados de $C_{m\acute{a}x}$ obtenidos para el ciprofloxacino tras la administraci3n del enrofloxacin en formulaci3n SC1 (tabla 67), podemos decir que si bien son muy similares a los obtenidos tras la administraci3n del ciprofloxacino vía intravenosa, son bastante superiores a los obtenidos por vía subcutánea sin polímero (tabla 67).

Comparado con enrofloxacin y difloxacino en cabras (Titos Arcos 2010, Marín y cols 2010a) se obtienen relaciones similares, valores de $C_{m\acute{a}x}$ de 2275,26 $\mu\text{g/L}$ frente a 2354,63 $\mu\text{g/L}$ y 1679,98 $\mu\text{g/L}$ y de $C_{m\acute{a}x}$ de 2970 $\mu\text{g/L}$ frente a 3090 $\mu\text{g/L}$ y 1340 $\mu\text{g/L}$ para las vías intravenosa y subcutánea sin polímero. En estos casos también se utiliza una dosis tres veces superior.

5.7.3.3.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC) y RATIO AUC_{leche}/AUC_{plasma} .

El área bajo la curva de concentraci3n en leche-tiempo (AUC), obtenido tras la administraci3n subcutánea del enrofloxacin en formulaci3n SC1 a una dosis de 15 mg/kg, alcanza un valor de 67754,42 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ para el enrofloxacin (Tabla 52) y 128567,64 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ para su metabolito, ciprofloxacino (Tabla 56).

El valor de AUC para enrofloxacin en leche es muy superior al hallado cuando administramos el enrofloxacin vía intravenosa y subcutánea sin polímero, concretamente es

casi 2,2 veces superior al descrito para el enrofloxacin cuando administramos el enrofloxacin vía intravenosa (30824,10 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$; Tabla 64) y 15 veces superior al obtenido cuando se administro el enrofloxacin vía subcutánea (15251,71 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$; Tabla 67). Hay que tener en cuenta que la dosis administrada de enrofloxacin en las vías intravenosa y subcutánea sin polímero fue de 5 mg/kg.

Al igual que ocurría en anteriores vías de administración del enrofloxacin, intravenosa y subcutánea sin polímero P407, se puede comprobar como el AUC obtenido para el metabolito, ciprofloxacino, es superior al AUC del enrofloxacin. En este caso, es aproximadamente 2 veces superior.

También, el valor de AUC para el ciprofloxacino en leche obtenido tras administrar el enrofloxacin en formulación SC1 es superior al descrito para el ciprofloxacino en la vía intravenosa, aproximadamente 3,5 veces (37918 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$; Tabla 30). Del mismo modo, también es superior al hallado para la vía subcutánea al administrar el enrofloxacin sin polímero, cuyo valor es 4,2 veces superior (30740 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$; Tabla 30) al descrito tras administrar el enrofloxacin con polímero. Todo ello teniendo en cuenta que la dosis administrada de enrofloxacin 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 enrofloxacin y su metabolito, ciprofloxacino en leche, tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC1 vía subcutánea. Para ello se calcula la ratio que relaciona las áreas bajo la curva de concentración en leche-tiempo del enrofloxacin y ciprofloxacino, obtenidas tras la administración subcutánea del enrofloxacin en formulación SC1, 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 enrofloxacin y para su metabolito, ciprofloxacino, han sido de 0,91 y 15,91, respectivamente (Tablas 52 y 56). En el caso del enrofloxacin este valor indicaría, al igual que en anteriores ratios calculadas para la vía intravenosa y subcutánea sin polímero, que la penetración del enrofloxacin en leche tras la administración de enrofloxacin en formulación SC1 es buena. 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 $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$ obtenido para el enrofloxacin, es similar al obtenido para el mismo fármaco cuando se administro en cabras a una dosis de 15 mg/kg vía subcutánea SC1, el cual fue de 0,67 (Titos, 2010).

La ratio $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$ para el enrofloxacin es parecida a la descrita en la vía intravenosa (1,00; Tabla 80) y superior a la encontrada en la vía subcutánea sin polímero (0,64; Tabla 64). En estos los casos el $\text{AUC}_{\text{leche}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$ es próximo a 1 o inferior.

En el caso del ciprofloxacino, la ratio $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ obtenida al administrar el enrofloxacin en formulaci3n SC1 es inferior a la descrita para la v3a intravenosa (28,04; Tabla 67) y superior al descrito en la v3a subcut3nea sin pol3mero (12,42; Tabla 67). Por tanto, el ciprofloxacino penetrar3a m3s en leche cuando se administra con pol3mero P407 y por v3a subcut3nea.

5.7.3.4.- RATIO $C_{\text{m3x-leche}}/C_{\text{m3x-plasma}}$.

Con este par3metro podemos estimar tambi3n la penetraci3n del f3rmaco en leche, el valor de la ratio $C_{\text{m3x-leche}}/C_{\text{m3x-plasma}}$ ha sido de 0,81 (tabla 52) para enrofloxacin frente a 0,61 y 0,44 obtenidos en las v3as intravenosa y subcut3neas sin pol3mero (tabla 64) y de 15,16 para ciprofloxacino (tabla 56) frente a 11,52 y 18,69 en las v3as IV y SC (tabla 67). Con ello podemos indicar, al igual que en el anterior ratio, que existe cierta penetraci3n en leche tras la administraci3n de enrofloxacin y su metabolito en formulaci3n SC1 que induce a pensar que podr3a existir acumulaci3n del antimicrobiano en leche.

Comparado con enrofloxacin y difloxacino, con valores de 0,68 y 0,96, (Titos Arcos 2010 y Mar3n y cols., 2010a) cuando se administraron cada uno en cabras a una dosis de 15 mg/kg v3a subcut3nea con pol3mero P407, podemos decir que, posiblemente, la penetraci3n de marbofloxacino y difloxacino sea similar a la de enrofloxacin.

5.7.3.5.- CANTIDAD TOTAL DE ENROFLOXACINO 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 15 mg/kg de enrofloxacin en formulaci3n SC1, han supuesto un 0,36% y un 0,85%, respectivamente, de la dosis administrada de enrofloxacin (Tablas 52 y 56).

Estos valores son inferiores a los hallados para la v3a subcut3nea sin pol3mero, los cuales fueron del 0,27% y un 0,60%, respectivamente, de la dosis administrada (Tablas 64 y 67). Tambi3n son inferiores a los descritos para la v3a intravenosa, que fueron de 0,84% y 0,63%, para enrofloxacin ciprofloxacino, respectivamente, de la dosis administrada (Tablas 64 y 67).

Por tanto, la cantidad eliminada por leche de enrofloxacin y su metabolito, ciprofloxacino, es superior cuando se administra el enrofloxacin v3a intravenosa y subcut3nea sin pol3mero.

5.7.4.- EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ENROFLOXACINO EN LECHE: ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2% (SC2).

La evolución de las concentraciones medias (media \pm SD) experimentales de enrofloxacin y de su metabolito activo, ciprofloxacino, obtenidas en leche de oveja tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en formulación SC2 vía subcutánea se muestra en el Gráfico 60, en el que se puede observar cómo se detectan concentraciones de enrofloxacin y ciprofloxacino en leche hasta las 120 h posteriores a la administración del enrofloxacin. 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 48 h posteriores a la administración del enrofloxacin (Gráficos 45 y 48).

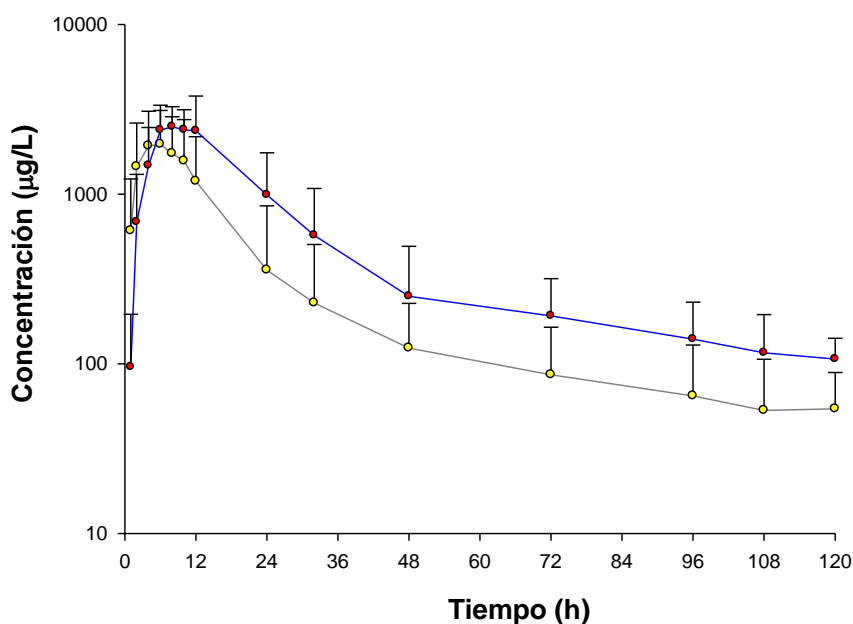
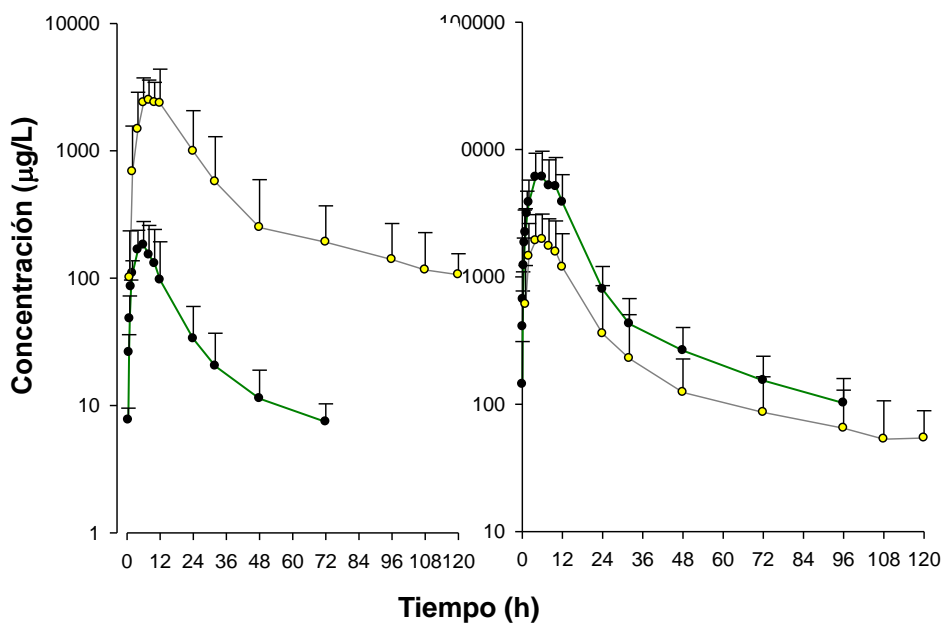


GRÁFICO 60.-PROMEDIO CONCENTRACIONES ENRO Y CIPRO-SC2- LECHE: Se representan los valores medios en leche de enrofloxacin (línea gris) y ciprofloxacino (línea azul) tras la administración por vía subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin en solución del polímero P407 al 25%(SC-1) más carboximetilcelulosa al 2%.

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 46 y 48, respectivamente. Podemos observar como en el caso del enrofloxacin (Gráfico 46), las concentraciones plasmáticas son superiores pero se detectan hasta las 96 h posteriores a la administración del enrofloxacin, mientras en leche las concentraciones se prolongan hasta las 132 horas. No ocurre lo mismo con el ciprofloxacino

(Gráfico 48), en el cual las concentraciones en leche son superiores a las plasmáticas y se mantienen durante un periodo de tiempo más prolongado, concretamente 132 horas en leche, frente a las 48 horas en plasma, al igual que ocurría tras la administración del enrofloxacinó vía intravenosa y subcutánea sin polímero P407, lo que resulta interesante para el tratamiento de la mastitis. Un fenómeno similar fue descrito para esta formulación SC2 por Titos y cols. (2010) para el mismo fármaco en cabras.



GRÁFICOS 46 Y 48: MEDIA EN PLASMA Y LECHE DE ENRO Y CIPRO- SC-2: En los gráficos anteriores se representan las concentraciones promediadas obtenidas tras la administración de una dosis de 15mg/kg de enrofloxacinó por vía subcutánea en solución del polímero P407 más carboximetilcelulosa al 2% en plasma (línea gris) y leche (línea azul) para enrofloxacinó (gráfico 46) y para ciprofloxacino (gráfico 48).

En la Tablas 60 y 63, se muestra la media de los parámetros farmacocinéticos así como los estadísticos de desviación, obtenidos por análisis no compartimental para el enrofloxacinó y su metabolito, ciprofloxacino, respectivamente. En las tablas 58 y 61 se incluyen los resultados del análisis de la varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) que indican que las concentraciones de enrofloxacinó y de ciprofloxacino detectadas en leche, a sus correspondientes tiempos de ordeño, no varía entre animales, pero sí entre tiempos.

Para nuestro conocimiento, sólo existen en la literatura estudios farmacocinéticos de las concentraciones de enrofloxacinó y difloxacino en leche de cabras, tras su administración en

fórmulas de liberación controlada como es la SC2 de nuestro estudio, por lo que los parámetros farmacocinéticos obtenidos se referían a esas publicaciones (Titos Arcos 2010, Marín y cols 2010)

5.7.4.1.- TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT).

Tras la administración de una dosis de 15 mg/kg en formulación SC2, el MRT alcanza un valor de 36,22 h para enrofloxacin y de 5,61 en el caso del ciprofloxacino (Tabla 60 y 63). Este valor de MRT obtenido en leche tras su administración en formulación SC2 es superior en casi 8,4, 2,13 y 1,2 veces a los descritos para las vías IV, SC y SC1. Siendo similar al obtenido en leche cuando se administra en formulación SC1. En este caso la diferencia es de casi 1,2 veces como se ha descrito anteriormente (29,83 h; Tabla 67).

Al igual que hacíamos para anteriores vías, podemos comparar este valor de MRT obtenido en leche con el hallado en plasma, que fue de 22,71 h (Tabla 67). Como se puede observar, al igual que ocurría en la vía SC1, los valores de MRT son más elevados en leche que en plasma, pero hay mayor diferencia entre las administraciones con y sin polímero que las que utilizan P407 y P407 + 2% carboximetilcelulosa.

5.7.4.2.- TIEMPO MÁXIMO ($T_{m\acute{a}x}$) Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA ($C_{m\acute{a}x}$).

El valor de $T_{m\acute{a}x}$ que se ha obtenido ha sido de 7,00 h para enrofloxacin y de 13 h para el metabolito ciprofloxacino. Superior, a los hallados en las vías anteriores sin polímero tras su administración subcutánea sin polímero e intravenosa.

Estos resultados de $T_{m\acute{a}x}$ para enrofloxacin y ciprofloxacino son algo inferiores, en 1,4 y 1,2 h respectivamente, a los obtenidos tras su administración subcutánea en la formulación SC1, los cuales fueron de 9,6 y 10,4 h, respectivamente (Tablas 64 y 67). Diferencias más grandes se describen si los comparamos con los valores de $T_{m\acute{a}x}$ para enrofloxacin y ciprofloxacino tras la administración intravenosa y subcutánea de enrofloxacin sin polímero. Para la vía intravenosa se obtuvieron unos valores de 9 y 2 veces (Tablas 29 y 30), inferiores, y para la subcutánea sin polímero se hallaron unos valores de 2,4 y 1,8 veces inferiores (Tablas 29 y 30), a los descritos tras administrar el enrofloxacin en formulación SC2.

En cuanto a la $C_{m\acute{a}x}$ en leche, el valor obtenido para el enrofloxacin en formulación SC2 en ovejas tras la administración de una dosis de 15 mg/kg ha sido de 2231,36 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 64), y para su metabolito, ciprofloxacino, ha sido de 3123,58 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 67), valor superior al de enrofloxacin como ocurría en anteriores vías.

El valor de $C_{m\acute{a}x}$ en leche para el enrofloxacin cuando se administra por vía subcutánea en formulación SC2 es inferior al alcanzado cuando se administró en enrofloxacin vía

subcutánea en formulación SC1 a una dosis de 15 mg/kg, la cual fue de 3218,96 µg/L (Tabla 64) e inferior a la descrita cuando se administró enrofloxacino vía intravenosa a una dosis de 5 mg/kg (10281,50 µg/L; Tabla 64). Sin embargo, respecto a la vía subcutánea sin polímero, la $C_{m\acute{a}x}$ en leche de enrofloxacino cuando se administra por vía subcutánea en formulación SC2 es 1,29 veces superior a la $C_{m\acute{a}x}$ en leche alcanzada tras la administración subcutánea sin polímero (1732,17 µg/L; Tabla 64), 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 $C_{m\acute{a}x}$ obtenidos para el ciprofloxacino (3123,58 µg/L; Tabla 67) tras la administración del enrofloxacino en formulación SC2, podemos decir que es bastante inferior al descrito para el ciprofloxacino tras la administración del enrofloxacino en formulación SC1, cuyo valor fue de 5277,92 µg/L (Tabla 67). Además, es inferior al obtenido tras la administración del enrofloxacino vía intravenosa y subcutánea sin polímero, concretamente 1,56 y 1,24 veces, respectivamente ($C_{m\acute{a}x}$ cipro iv = 4882 µg/L, Tabla 67; $C_{m\acute{a}x}$ cipro sc = 2506 µg/L, Tabla 67).

Comparado con enrofloxacino en cabras, se encuentra que, con la formulación SC2, se alcanzan valores de 6 h frente a 5,6 h, 3,2 h y 1,3 h respectivamente, tras su administración subcutánea con y sin polímero e intravenosa (en este último caso es casi 5 veces superior, Titos Arcos., 2010), pero similar para difloxacino (Escudero 2011, Marín y cols., 2010a) con 4h, frente a 3,6 h, 4 h y 1,16 h tras su administración subcutánea con y sin polímero e intravenosa. En todos los casos, y enrofloxacino en ovejas no es una excepción, el valor de T_{max} obtenido en leche con la formulación SC2 resulta superior, o igual, en las vías subcutáneas con y sin polímero, pero siempre es superior al obtenido por vía intravenosa.

5.7.4.3.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC) y RATIO AUC_{leche}/AUC_{plasma} .

El AUC en leche-tiempo, obtenido tras la administración subcutánea en formulación SC2 a una dosis de 15 mg/kg, alcanza un valor de 45.213,92 µg·h/L para enrofloxacino y de 69403,69 µg·h/L para el metabolito ciprofloxacino, inferior al obtenido en formulación SC1 (67754 µg·h/L Tabla 36) y 1,5 veces inferior que el obtenido por las vías intravenosa y subcutánea sin polímero. Sin embargo, y al igual que le ocurría a la formulación anterior SC1, resultados similares se obtienen al corregir estos valores a la dosis de 5 mg/kg (tabla 60).

A partir de este parámetro, al igual que en anteriores vías, calcularemos la ratio que relaciona las áreas bajo la curva de concentración en leche-tiempo, obtenidas tras la administración subcutánea en formulación SC2, con las áreas totales bajo la curva de concentración plasmática. Se calcula un valor de 0,56 en el caso de enrofloxacino y de 21,72 para ciprofloxacino, que resulta ser de mayor orden de magnitud que el obtenido para la formulación SC1 (0,91; enrofloxacino y 15,91; ciprofloxacino). Esto vuelve a indicar de nuevo que

existe cierta penetración en leche tras la administración de enrofloxacin en formulación SC2 que induce a pensar que podría existir acumulación del antimicrobiano en leche.

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 0,44 y 16,14, para el enrofloxacin y ciprofloxacino (Tablas 60 y 63), respectivamente.

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 ($C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma sc enro}} = 0,44$, Tabla 64; $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma sc cipro}} = 11,52$, Tabla 101) y vía subcutánea con formulación SC1 ($C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma sc enro}} = 0,81$, Tabla 64; $C_{\text{máx-leche}}/C_{\text{máx-plasma sc cipro}} = 15,16$, Tabla 67), 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 0,19% en ambos casos, de la dosis administrada de enrofloxacin (Tablas 60 y 63).

Este valor es inferior al descrito para la vía SC1, al administrar el enrofloxacin en formulación polimérica, los cuales fueron del 0,36% y 0,85% 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 0,27% y un 0,60%, respectivamente, de la dosis administrada (Tablas 64 y 67) e inferiores a los descritos para la vía intravenosa, que fueron de 0,84% y 0,63%, para el enrofloxacin y ciprofloxacino, respectivamente, de la dosis administrada (Tablas 64 y 67). 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 oveja, puede observarse gráficamente en los Gráficos 53 y 55, respectivamente. Los parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ambos productos en la leche se muestran en las tablas 64 y 67. En la Tabla 68 se muestran los resultados del estudio comparativo no paramétrico (Kruskal-Wallis) entre ellos.

5.8.1.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC).

La prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis pone de manifiesto que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los valores de AUC obtenidos en los 4 casos. Es preciso señalar que, en el caso de las formulaciones controladas, se ha corregido el AUC a una dosis 3 veces menor (5 mg/kg). Como podemos observar en la Tabla 64, dichos valores de AUC de las fórmulas de liberación sostenida del enrofloxacin son muy similares.

En la siguiente figura (18), se observa de forma gráfica las diferencias existentes en el área bajo la curva de concentración en leche-tiempo para el enrofloxacin en ovejas, entre la vía intravenosa y subcutánea con y sin polímero:

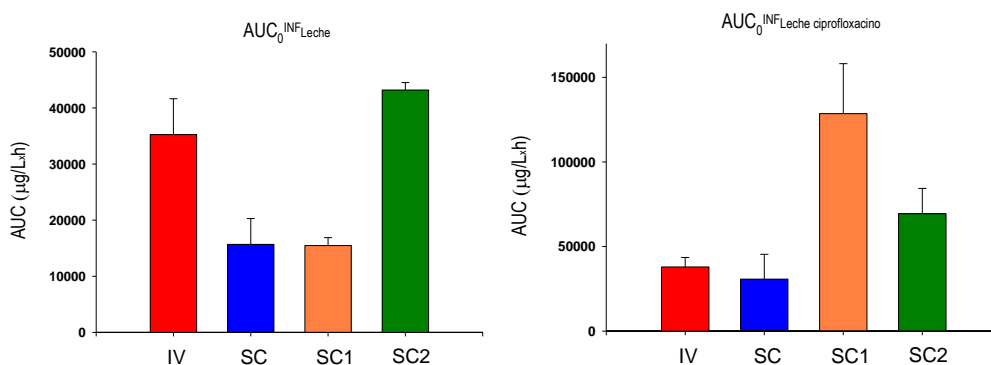


FIGURA 18.- ÁREA BAJO LA CURVA DE CONCENTRACIÓN EN LECHE-TIEMPO (AUC) obtenidos para enrofloxacin y ciprofloxacino en la oveja tras la administración por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

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 ($p < 0,05$). Como se puede apreciar (Tabla 68), 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 enrofloxacin (Tabla 64) son superiores a los obtenidos para el enrofloxacin. De ahí, que podamos afirmar que el ciprofloxacino permanece en leche durante más tiempo que el enrofloxacin. Hecho que debe ser tenido en cuenta tanto desde el punto de vista terapéutico como sanitario. A continuación (Figura 19), se presentan los valores de MRT de forma gráfica, para el enrofloxacin (A) y ciprofloxacino (B), en los casos estudiados:

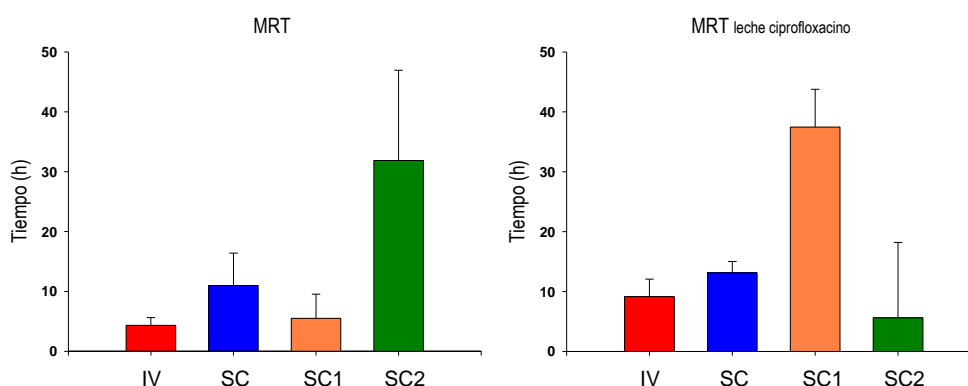


FIGURA 19.- TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT) de enrofloxacin y ciprofloxacino en leche obtenido en la oveja tras la administración vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 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 64 pone de manifiesto que se obtiene una mayor $C_{m\acute{a}x}$ de enrofloxacin en leche así como un $T_{m\acute{a}x}$ cuando se administra enrofloxacin vía intravenosa. Los valores de $C_{m\acute{a}x}$ de enrofloxacin resultan estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) entre las administraciones realizadas (Tabla 65).

En cuanto al ciprofloxacino, se repite con exactitud lo ocurrido con el enrofloxacin. En la Tabla 67 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 enrofloxacin en alguna de las dos formulaciones de liberación controlada.

Los valores de $C_{m\acute{a}x}$ de ciprofloxacino resultan estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) entre las administraciones realizadas en el estudio (Tabla 68). En la siguiente figura (20), se observa de forma gráfica las diferencias existentes para el enrofloxacin (A) y para su metabolito ciprofloxacino (B) en ovejas, entre la vía intravenosa y subcutánea con y sin polímero, con respecto al $T_{m\acute{a}x}$ de enrofloxacin en leche y la $C_{m\acute{a}x}$ de enrofloxacin en leche:

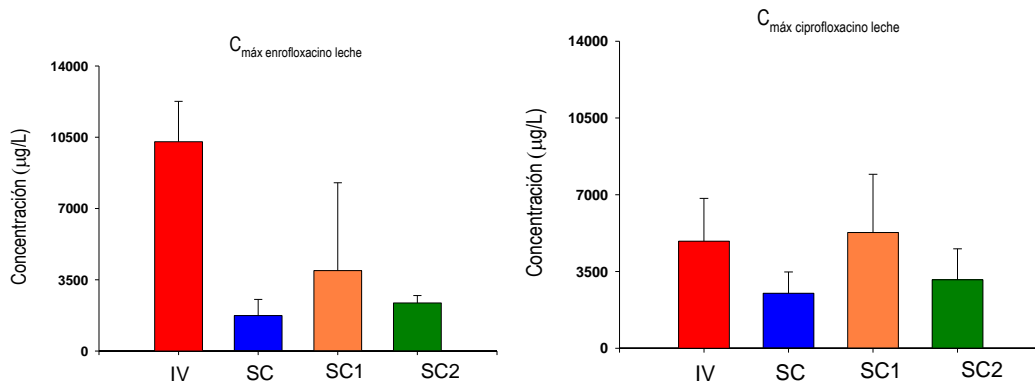


Figura 20 .- Concentración máxima de enrofloxacin y ciprofloxacino en leche obtenida en la oveja tras la administración vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a una dosis de 15 mg/kg.

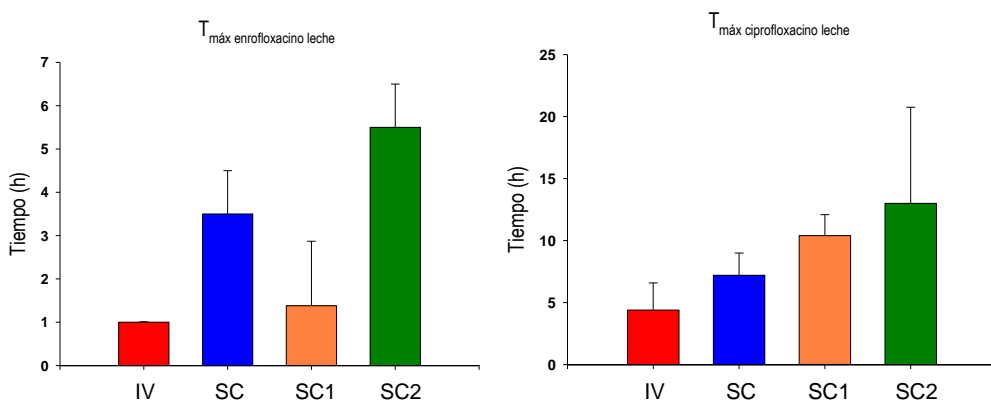


Figura 21.- Tiempo en que se alcanza la concentración máxima de enrofloxacino (A) y ciprofloxacino (B) en leche obtenidos en la oveja tras la administración de enrofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC) a una dosis de 5 mg/kg, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y vía 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 pertenece al grupo de antibacterianos cuya actividad 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 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 ovejas, o en general, a infecciones en animales (Lees y Shojaee Aliabadi, 2002). Sin embargo, corrigiendo las diferencias entre especies, 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).

Las experiencias realizadas con éstos modelos integrados farmacocinéticos-farmacodinámicos, 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 adecuada para evitar la aparición de resistencias (Andes y Craig, 2002b).

En el presente estudio se ha determinado la sensibilidad a enrofloxacino y ciprofloxacino frente a diez cepas de *Staphylococcus aureus* obtenidas de ovejas lactantes con estafilococias crónicas intramamarias en granjas comerciales. Como cepas de referencia se utilizaron *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

De las cepas estudiadas frente a enrofloxacino, con un rango de concentraciones entre 0,03 $\mu\text{g/mL}$ - $\geq 1,00 \mu\text{g/mL}$, cinco presentaron CMI de 0,25 $\mu\text{g/mL}$ y dos CMI de 0,12 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 39). Se establece, por tanto, como CMI_{90} , un valor de 0,50 $\mu\text{g/mL}$ para enrofloxacino. Las cepas de referencia han presentado un valor de CMI de 0,25 $\mu\text{g/mL}$ para *S. aureus* ATCC 29213 y 0,06 $\mu\text{g/mL}$ para *E. coli* ATCC 25922.

Por tanto, en el presente estudio, para las cepas ovinas con CMI₉₀ y CMI frente a enrofloxacino, los ratios AUC/CMI y C_{max}/CMI, calculados para cada administración fueron los siguientes:

		Animales sometidos a estudio (Ovejas)							
Vía	Ratio PK-PD	1	2	3	4	5	Promedio	SD	CV
IV	AUC ₀₋₂₄ /MIC ₉₀ (h)	84,61	52,13	61,58	80,79	69,44	69,78	15,49	22,20
SC	AUC ₀₋₂₄ /MIC ₉₀ (h)	30	33,97	25,39	29,90	24,72	29,76	3,50	11,77
P407	AUC ₀₋₂₄ /MIC ₉₀ (h)	62	135,0	69	88	104	88,60	32,79	37,02
PCM C	AUC ₀₋₂₄ /MIC ₉₀ (h)	43,54	49,42	56,17	75,95	38,64	56,27	14,10	25,06
IV	C ₀ /MIC ₉₀	26,26	11,41	17,90	23,96	23,29	19,88	6,66	33,48
SC	C _{max} /MIC ₉₀	2,98	5,01	3,40	3,07	2,86	3,62	0,95	26,16
P407	C _{max} /MIC ₉₀	4,22	9,49	5,13	5,80	7,54	6,16	2,31	37,53
PCM C	C _{max} /MIC ₉₀	2,74	3,92	69,49	87,88	103,82	41,01	44,15	107,67

TABLA 41.- Ratios farmacocinéticos y farmacodinámicos indicadores de la eficacia clínica de enrofloxacino frente a cepas de S.aureus con MIC₉₀ y MIC 0,125 y 0,25 µg/mL, obtenidos tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y tras la administración de una dosis de 15 mg/kg por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) a cabras.

De las cepas estudiadas frente a ciprofloxacino, con un rango de concentraciones entre 0,03 µg/mL - $\geq 1,00$ µg/mL, 4 presentaron CMI de 0,25 µg/mL y dos CMI de 0,12 µg/mL (Tabla 39). Se establece, por tanto, como CMI₉₀, un valor de 0,50 µg/mL para ciprofloxacino. Las cepas de referencia han presentado un valor de CMI de 0,25 µg/mL para S. aureus ATCC 29213 y 0,06 µg/mL para E. coli ATCC 25922.

Por tanto, en el presente estudio, para las cepas ovinas con CMI₉₀ y CMI frente a ciprofloxacino, los ratios AUC/CMI y C_{max}/CMI, calculados para cada administración fueron los siguientes:

		Animales sometidos a estudio (Ovejas)							
Via	Ratio PK-PD	1	2	3	4	5	Promedio	SD	CV
IV	AUC ₀₋₂₄ /MIC ₉₀ (h)	169,23	104,25	123,16	161,59	138,88	139,56	30,99	22,20
SC	AUC ₀₋₂₄ /MIC ₉₀ (h)	101,12	65,08	110,25	197,84	90,30	118,57	56,33	47,51
P407	AUC ₀₋₂₄ /MIC ₉₀ (h)	141,82	237,97	345,60	305,35	508,76	257,69	89,10	34,58
PCM C	AUC ₀₋₂₄ /MIC ₉₀ (h)	119,77	168,30	175,42	171,30	160,77	158,70	26,12	16,46
IV	C ₀ /MIC ₉₀	17,40	7,80	19,09	26,78	26,57	17,77	7,80	43,87
SC	C _{max} /MIC ₉₀	7,71	5,03	9,75	14,75	12,88	9,31	4,11	44,13
P407	C _{max} /MIC ₉₀	8,67	15,45	23,33	20,86	37,23	17,08	6,50	38,05
PCM C	C _{max} /MIC ₉₀	5,210	12,89	12,89	18,99	13,58	12,49	5,64	45,17

Estos resultados sólo predicen, a priori, el éxito clínico del tratamiento con este quimioterápico para cepas con CMI $\leq 0,125$ $\mu\text{g/mL}$ utilizando los ratios AUC/CMI como indicadores de eficacia, y para los ratios C_{max}/CMI se previene la aparición de mutantes resistentes.

En resumen, las ventajas de este tipo de formulaciones pueden resumirse en tres:

- 1) Se utiliza menor cantidad de fármaco, disminuyendo posibles efectos colaterales y la acumulación en tratamientos prolongados.
- 2) Se incrementa la eficacia del tratamiento (menores fluctuaciones en los niveles plasmáticos alcanzados al prolongarse los tiempos de liberación)
- 3) Reducción en el manejo de los animales, disminuyendo el estrés de los mismos y el coste de los tratamientos.

Estos resultados, sin embargo, deben tomarse con precaución, ya que se establece como punto de partida alcanzar unas condiciones farmacocinéticas que favorezcan las propiedades farmacodinámicas del antibacteriano. Y estas premisas utilizadas en el estudio integrado farmacocinético-farmacodinámico, pueden no ser aplicables en medicina veterinaria en muchos casos (Lees y Shojaee Aliabadi 2002a, Toutain y cols, 2004b). En efecto, los valores numéricos de los parámetros utilizados, ratios AUC₂₄/CMI₉₀ y C_{máx}/CMI₉₀, como indicadores de eficacia clínica para predecir, establecer dosis y pautas posológicas apropiadas, se han generado en

infecciones experimentales con 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).

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 frente a diferentes microorganismos patógenos, han observado valores de AUC/CMI inferiores tal y como se muestra en la tabla siguiente:

AUC/CMI	Ternero	Oveja	Cabra	Camello
Bacteriostático	15,9 ± 2	17,8 ± 1,7	22,6 ± 1,7	17,2 ± 3,6
Bactericida	18,1 ± 1,9	20,2 ± 1,7	29,6 ± 2,5	21,2 ± 3,7
Erradicación	33,5 ± 3,5	28,7 ± 1,8	52,4 ± 8,1	68,7 ± 15,6

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 estos antimicrobianos mediante quelación), 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).

Otro aspecto a considerar es el hecho de que, en la mamitis, la inflamación producida en la glándula mamaria da lugar a cambios en la permeabilidad vascular y a diferencias en la composición de la leche. Generalmente el pH aumenta, disminuyen las concentraciones de caseína pero aumentan las de albúmina y el contenido en grasa también puede disminuir. Todos estos factores pueden modificar el comportamiento farmacocinético de los antimicrobianos, sin embargo, su importancia exacta aún no se comprende totalmente (Gehring y cols 2006).

Todos los resultados y premisas anteriores indican que, aunque no se puede asumir que los valores de las CMI obtenidos in vitro sean idénticos a los obtenidos utilizando fluidos biológicos en ensayos ex vivo, los valores alcanzados en los indicadores de eficacia de enrofloxacin y ciprofloxacino, tras su administración a la dosis de 15 mg/kg para las formulaciones SC1 y SC2, son consistentes con los niveles necesarios en plasma para alcanzar el éxito clínico frente a cepas de *S. aureus* con CMI ≤ 0,25 µg/mL.

6.- CONCLUSIONES

1.- El comportamiento farmacocinético de enrofloxacinó tras su administraci3n intravenosa (formulaci3n IV) y subcut3nea (formulaci3n SC) en oveja, a una dosis 3nica de 5 mg/kg, y tras su administraci3n subcut3nea en soluci3n del pol3mero P407 al 25% (formulaci3n SC1) y en soluci3n del pol3mero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (formulaci3n SC2), a una dosis de 15 mg/kg se ajusta a un modelo bicompartimental abierto. Las ecuaciones que los representan son las siguientes:

- IV: $C = 11373 \cdot e^{-0,58 \cdot t} + 826 \cdot e^{-0,09 \cdot t}$
- SC $C = 45903 \cdot e^{-0,31 \cdot t} + 282,05 \cdot e^{-0,06 \cdot t} - 46186 \cdot e^{-0,39 \cdot t}$
- SC1: $C = 32749 \cdot e^{-0,12 \cdot t} + 290 \cdot e^{-0,02 \cdot t} - 33040 \cdot e^{-0,17 \cdot t}$
- SC2: $C = 31952 \cdot e^{-0,15 \cdot t} + 396 \cdot e^{-0,02 \cdot t} - 32349 \cdot e^{-0,2,73 \cdot t}$

2.- Los tiempos de vida media ($t_{1/2\lambda_z}$) obtenidos para enrofloxacinó para las diferentes v3as de administraci3n y formulaciones son: IV (8,11 h), SC (13,00 h), SC1 (34,80 h) y SC2 (38,66 h), siendo significativamente mayores los de las formulaciones controladas. Algo similar ocurre con el MRT, que adquiere, respectivamente, los siguientes valores: 5,41 h (IV), 7,92 h (IM), 20,74 h (SC1) y 22,71 h (SC2). Claramente, la permanencia de enrofloxacinó es mayor tras la administraci3n subcut3nea (SC2) que es, por tanto, la mejor forma de administraci3n a fin de obtener concentraciones plasm3ticas durante un mayor tiempo.

3.- La depuraci3n plasm3tica de enrofloxacinó en oveja medida por el aclaramiento corporal (Cl) adquiere un valor de $0,16 \pm 0,03$ L/kg·h, tras su administraci3n intravenosa.

4.- Los valores del volumen de distribuci3n aparente en funci3n del 3rea bajo la curva ($V_z = 2,01 \pm 0,52$ L/kg) y en el estado estacionario ($V_{ss} = 0,89 \pm 0,26$ L/kg) de enrofloxacinó 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.

5.- Las constantes de absorción obtenidas para enrofloxacin han sido: formulación SC ($0,39 \text{ h}^{-1}$), formulación SC1 ($0,17 \text{ h}^{-1}$) y formulación SC2 ($0,253 \text{ h}^{-1}$), siendo significativamente menores en las formulaciones retardadas, por lo que la absorción es significativamente más lenta.

6.- La concentración plasmática máxima ($C_{\text{máx}}$), obtenida para enrofloxacin en la formulación SC2 en cabra, es de $4912,25 \mu\text{g/L}$, 1,23 veces superior a la obtenida al administrar el enrofloxacin en la formulación SC1 ($3965,44 \mu\text{g/L}$); también es superior a la $C_{\text{máx}}$ alcanzada tras la administración SC ($3944,20 \mu\text{g/L}$). Sin embargo, hay que tener en cuenta que la administración del enrofloxacin con las formulaciones controladas (SC1 y SC2) se hizo a una dosis 3 veces superior a la formulación SC. Al comparar los valores de $C_{\text{máx}}$, a igualdad de dosis, se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos con la formulación SC y los de las formulaciones controladas ($P < 0,05$). Además, también existen diferencias estadísticamente significativas para el tiempo en que se alcanza dicha concentración máxima ($T_{\text{máx}}$) entre la administración SC (3,2 h) y las formulaciones SC1 (8 h) y SC2 (5,20 h) ($P < 0,05$).

7.- La biodisponibilidad (F) de enrofloxacin, tras su administración SC en cabra es del 104,72%. Valores inferiores de F resultan cuando se administra vía subcutánea en la formulación SC1 (82,01%) y en la SC2 (84,01%).

8.- Con los datos de CMI de enrofloxacin y ciprofloxacino, determinados *in vitro* frente a cepas específicas de *Staphylococcus aureus*, y teniendo en cuenta los índices $C_{\text{máx}}/\text{CMI}$ y AUC/CMI , se puede concluir que la administración una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin por vía subcutánea con las dos formulaciones (SC1 y SC2) podría ser efectiva contra aislados bacterianos con $\text{CMI} \leq 0,12 \mu\text{g/mL}$. El uso en las formulaciones SC1 y SC2 una dosis de 15 mg/kg, con 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 $\text{CMI} \leq 0,25 \mu\text{g/mL}$.

9.- La especialidad medicamentosa de partida, señala como régimen de dosificación una administración subcutánea cada 24 horas (dosis 5 mg/kg). Según los resultados obtenidos, la administración SC mantiene las concentraciones plasmáticas por encima de la CMI 12 horas, las formulaciones SC1 y SC2 mantienen esas concentraciones hasta las 132 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 y SC2 podrían administrarse cada 72 horas.

10.- El enrofloxacinó se elimina en leche en una pequeña proporción que varía según las diferentes formulaciones: IV (0,84%), SC (0,27%), SC1 (0,36%) y SC2 (0,19%). Valores algo superiores se obtienen para su metabolito, ciprofloxacino: IV (0,63%), SC (0,60%), SC1 (0,85%) y SC2 (0,19%). Así, la cantidad eliminada por leche de enrofloxacinó y su metabolito, ciprofloxacino, es superior cuando se administra el enrofloxacinó en la formulación IV y SC1.

11.- Teniendo en cuenta el valor de MRT, se observa como la presencia del enrofloxacinó 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.

12.- Los valores de MRT del ciprofloxacino en leche nos permiten afirmar que dicho metabolito permanece en leche durante más tiempo que el enrofloxacinó todas las vías de administración del estudio.

13.- El coste final del tratamiento debería ser inferior al tratamiento con la formulación convencional, teniendo en cuenta que se podría administrar cada 72 horas asegurando unos buenos ratios PK-PD de eficacia y posibilidad de evitar la aparición de resistencias.

7.- RESUMEN

OBJETIVO: Estudiar el comportamiento cinético de enrofloxacin y su metabolito, ciprofloxacino, en ovejas, tras la administraci3n por las v3as intravenosa y subcut3nea de una dosis de 5 mg/kg, y tras la administraci3n en soluci3n del pol3mero P407 al 25% y en soluci3n del pol3mero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% por v3a subcu3nea a la dosis de 15 mg/kg.

METODOS: La determinaci3n de enrofloxacin y de ciprofloxacino en plasma y leche se realiz3 mediante HPLC con detecci3n fluorescente, siguiendo el m3todo descrito por Siefert y cols. (1999). El ajuste a m3todos farmacocin3ticos compartimentales y no compartimentales se realiz3 mediante el programa 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).

RESULTADOS: Tras la administración intravenosa, enrofloxacino y ciprofloxacino se distribuyen según un modelo bicompartimental abierto, al igual que para las vías extravasculares. Tras la administración intravenosa, la vida media obtenida para el enrofloxacino ($t_{1/2\lambda z}$) fue de $8,11 \pm 2,22$ h con un tiempo medio de residencia (MRT) de $5,41 \pm 1,49$ 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 $0,89 \pm 0,26$ L/kg y $2,01 \pm 0,52$ L/kg respectivamente, indicando una amplia distribución orgánica. Por lo que respecta al aclaramiento plasmático (Cl), éste alcanzó un valor de $0,16 \pm 0,03$ L/kg·h. 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 obtuvieron los siguientes tiempos de vida media: $13,00 \pm 2,11$, $34,80 \pm 8,47$ y $38,66 \pm 8,97$ h, respectivamente, con unos valores de MRT de $7,92 \pm 0,67$, $20,74 \pm 3,57$ y $22,71 \pm 2,32$ h, respectivamente. La biodisponibilidad de enrofloxacino cuando se administró por vía subcutánea sin polímero, alcanzó un valor de $104,72 \pm 24,45$ %. 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 $82,01 \pm 22,06$ % y $84,01 \pm 21,57$ %, respectivamente. En cuanto al metabolito de ciprofloxacino, tras la administración intravenosa de enrofloxacino la vida media de ciprofloxacino fue de $6,83 \pm 3,00$ h con un valor de MRT de $6,36 \pm 1,71$ h. 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: $10,62 \pm 4,35$, $7,15 \pm 5,44$ y $20,61 \pm 6,06$ h, respectivamente, con unos valores de MRT de $11,90 \pm 2,05$, $16,78 \pm 3,77$ y $21,39 \pm 4,85$ h, respectivamente. Se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias de enrofloxacino y de ciprofloxacino frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, a fin de determinar los índices farmacocinético-farmacodinámicos óptimos.

CONCLUSIONES: De dicho estudio se puede concluir que una dosis de 15 mg/kg podría ser efectiva por vía subcutánea cuando se administre junto con polímero P407 al 25% o junto con polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, en ovejas contra aislados bacterianos con CMI $\leq 0,5$ µg/mL. La penetración en leche de enrofloxacino alcanzó unos ratios bajos, con unas

relaciones $AUC_{\text{leche}}/AUC_{\text{plasma}}$ cercanas a 0,5 en las vías subcutáneas y de 1 en la vía intravenosa. En el ciprofloxacino alcanzó unos ratios elevados, alcanzando relaciones del 10-20.

8.- SUMMARY

OBJECTIVE. To study the pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite, ciprofloxacin, were studied following intravenous and subcutaneous administration of single doses of 5 mg/kg to healthy sheep, and as a long-acting poloxamer 407 gel formulation and poloxamer 407 + carboxymethylcellulose.

METHODS: Plasma concentrations were determined by HPLC assay with fluorescence detection following the method described by Siefert et al. (1999). The fitting to compartmental and non compartmental pharmacokinetic methods was carried out by using WinNonlin Professional® 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.

RESULTS: The enrofloxacin plasma concentration versus time data after intravenous and extravascular administrations could best be described by a two compartment open model. The enrofloxacin terminal half-life ($t_{1/2\lambda,z}$) was 8,11h after intravenous administration, with a mean residence time (MRT) of 5,41 h. The apparent volumes of distribution calculated by the area method (V_z) and at steady-state (V_{ss}) were 0,89 and 2,01 L/kg, respectively, indicating a wide body distribution. Total body clearance was 0,16 L/kg·h. The ciprofloxacin terminal half-life ($t_{1/2\lambda,z}$) was 6,83 h after intravenous administration, with a mean residence time (MRT) of 6,36 h. After extravascular administrations, terminal half-lives were 13,00, 34,80 and 38,66 h for enrofloxacin administration subcutaneously without poloxamer, with long-acting poloxamer 407 gel formulation and with poloxamer 407 + carboxymethylcellulose, respectively. MRT values obtained were 4,08, 7,58 and 7,16 h respectively. Terminal half-lives were 10,62, 7,15 and 20,61 h for ciprofloxacin metabolite, after enrofloxacin extravascular administrations, subcutaneously without poloxamer, with long-acting poloxamer 407 gel formulation and with poloxamer 407 + carboxymethylcellulose respectively. MRT values obtained were 11,90, 16,78 and 21,39 h respectively. Absolute bioavailability was 104,72 % after enrofloxacin subcutaneous administration. Similar values were obtained, 82,01 % and 84,01 %, after enrofloxacin administration subcutaneously with long-acting poloxamer 407 gel formulation and with poloxamer 407 + carboxymethylcellulose, respectively. Minimal inhibitory concentrations (MIC) assays of enrofloxacin against different strains of *Staphylococcus aureus* were performed in order to compute pharmacodynamic surrogate markers.

CONCLUSION: It can be concluded from this study that a dosing regimen of 15 mg/kg could be effective by subcutaneous route with polymer P407 (25%) with or without carboximetylcelulose (2%) in sheep against *Staphylococcus aureus* isolates with MICs $\leq 0,5 \mu\text{g/mL}$.

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 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.

ABELSON, M.B. & HALLAS, S.J., 2003: The new antibiotics: The path of least resistance. *Ophthalmol.*,10: 47-49.

ABD EL-ATY, A.M., Y GOUDAH, A., 2002. Some pharmacokinetic parameters of pefloxacin in lactating goats. *Veterinary Research Communications* 26, 553-61.

BO 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.

ABRAHAM, S., FURTADO, S., BHARATH, S., BASAVARAJ, B.V., DEVESWARAN, R., MADHAVAN, V., 2009 Sustained ophthalmic delivery of ofloxacin from an ion-activated in situ gelling system. *Pak J Pharm Sci*:22(2):175-9.

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.*

AEMPS, 2012. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. <http://www.aemps.gob.es/https://sinaem4.agemed.es/consavetPub/fichasTecnicas.do?metodo=detalleForm>. Información técnica acerca de marbofloxacino, danofloxacino, enrofloxacino, flumequina y ácido oxolínico proporcionada por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios.

AESCHLIMANN, J.R., 2003: The role of multidrug efflux pumps in the antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and other gram-negative bacteria. *Pharmacotherapy*, 23(7): 916-924.

AKTIPIS, S. 2000. DNA I: Estructura y conformación. En: *Bioquímica*. Barcelona Ed: Devlin TM. 3ª ed. Reverté, S.A. (Vol 2): 592-595.

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.

ANTWAIN M. H., PAPICH M.G, FELT, S.A., LONG, C.T., MCKEON,G.P.,BOND, E.S., TORREILLES, S.L., LUONG,R.H., AND GREEN,S.L., 2010. The Pharmacokinetics Of Enrofloxacin In Adult african Clawed Frogs (*Xenopus Laevis*). Journal Of The American Association For Laboratory Animal Science; 49: 800–804

APPELBAUM, P. C., PANKUCH, G.A., BOZDOGAN, B., LIN, G., JACOBS, M.R., PATEL, M.V., GUPTA, 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.

APPELBAUM, P.C., HUNTER, P.A., 2000. The fluorquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents* 16, 5-15.

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 breastmilk, 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 goats. *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. Sulfamidaz. Trimetoprima. Cotrimoxazol. Nitrofurantoina. 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.S., LEE, J.Y., KIM, J., CHO, Y.H., LEE, J.H., PARK, J.S., KIM, M.O., 2000. Concentration of ofloxacin in canine prostate tissue and prostate fluid after intraprostatic injection of biodegradable sustained-releasing microspheres containing ofloxacin *J Urol.*;163(5):1560-4.

BALL, P., TILLOTSON, G., 1995. Tolerability of fluorquinolone anti-biotics: past, present and future. *Drug Saf*; 13: 343-58.

BALL, P., 1986. Ciprofloxacin: an overview of adverse experiments. *J Antimicrob Chemother* 18 (Suppl. D); 187-193.

BALL, P., 2000: Quinolone generations: natural history or natural selection? *J. Antimicrob. Chemother.*, 46 (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 representative bacterial isolates. *Antimicrob Agents Chemother*; 45: 1923-1927.

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.

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.

BEARDEN, D.T. & DANZIGER, L.H., 2001: Mechanism of action of and resistance to quinolones. *Pharmacotherapy*; 21(10s): 224s-232s.

BERGOGNE-BEREZIN, E., 2002. Clinical role of protein binding of quinolones. *Clinical Pharmacokinetics* 41, 741-750.

BEYER, R., PESTOVA, E., MILLICHAP, J.J., STOSOR, V., NOSKIN, G.A. & PETERSON, L.R., 2000: A convenient assay for estimating the possible involvement of efflux of fluoroquinolones by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*: evidence for diminished moxifloxacin, sparfloxacin, and trovafloxacin efflux. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 44(3): 798-801.

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 *Staphylococcus pyogenes*. *J. Med. Sci.*, 227: 533-568.

BLANCO, J. E., BLANCO, M., MORA A. & BLANCO J., 1997: Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *J. Clin. Microbiol.*, 35(8): 2184-2185.

BLONDEAU, J.M., HANSEN, G., METZLER, K. & HEDLIN, P., 2004: The role of PK/PD parameters to avoid selection and increase of resistance: mutant prevention concentration. *J. Chemother.*, 16 (Suppl3):1-19.

BLONDEAU, J.M., BORSOS, S., BLONDEAU, L.D., BLONDEAU B.J.J., HESJE, C.E. 2012. Comparative minimum inhibitory and mutant prevention drug concentrations of enrofloxacin, ceftiofur, florfenicol, tilmicosin and tulathromycin against bovine clinical isolates of *Mannheimia haemolytica*. *Veterinary Microbiology* 160 (2012) 85–90.

BOSWELL, F.J., ANDREWS, J.M. & WISE, R., 1997: Pharmacodynamic properties of BAY 12-8039 on gram positive and gram negative organisms as demonstrated by studies of time-kill kinetics and postantibiotic effect. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 41:1377-79.

BOSWELL, F.J., ANDREWS, J.M., WISE, R. & DALHOFF, A., 1999: Bactericidal properties of moxifloxacin and post-antibiotic effect. *J. Antimicrob. Chemother.*, 43: 43-49.

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 Association 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.

BRYSKER, P., CHANTOT, J.F., 1995. Classification and structure-activity relationships of fluorquinolones. *Drug*; 49 (Suppl. 2): 16-28.

BROWN, S.A., 1996. Fluorquinolones in animal health. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*; 19 1-14.

BURGMANN, P., 2000. Antimicrobial Drug Use in Rodents, Rabbits, and Ferrets. En: *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 3^a 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., HAESBROUCK, 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.

CHAN, C., AU-YEANG, C., YEW, W., LEUNG, C. & CHENG, A., 2004: In vitro postantibiotic effects of rifapentine, isoniazid, and moxifloxacin against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 48 (1): 340-343.

CHAPMAN, J. & GEORGOPAPADAKOU, N.H., 1988: Routes of quinolone permeation in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 4: 438-442.

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.

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.

CHALUMEAU, M., TONNELIER, S., D'ATHIS, P., TRELUYER, J.M., GENDREL, D., BREART, G & PONS, G., 2003: Fluoroquinolone safety in pediatric patients: A prospective, multicenter, comparative cohort study in France. *Pediatrics*, 111: 714-719.

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., 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.

COHEN, J.S., 2001: Peripheral neuropathy associated with fluoroquinolones. *Ann. Pharmacother.*, 35(12): 1540-7.

CONZELMAN, GM., MCMILLAN, RA., BAGGOT, JD., 1987. Pharmacokinetics of 1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylic acid (BAYVp2674) in chickens. *Proc West Pharmacol Soc*, 30: 393-395.

COOK, M.A, ALBERTI, D.N., PON, M., KIKAIKO, N.G., H., HEARST, J.E., 1995. Genes *acrA* and *acrB* encode a stress-induced efflux system of *Escherichia coli*. *J Mol Microbiol*; 16: 45-55.

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.

COX, S.K. Allometric scaling of marbofloxacin, moxifloxacin, danofloxacin and difloxacin pharmacokinetics: a retrospective analysis. 2007 . *Journal of Veterinary Pharmacological and Therapeutics* 30, 381–386.

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.

CRAIG, W. A., 2001: Does the Dose Matter? *Clin. Infect. Dis.*, 33(3): S233-237.

CROISIER, D., ETIENNE, M., BERGOIN, E., CHARLES, P-E, LEQUEU, C., PIROTH, L., PORTIER, H. & CHAVANET, P., 2004: Mutant selection window in levofloxacin and moxifloxacin

treatments of experimental pneumococcal pneumonia in a rabbit model of human therapy. *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 48(5): 1699-1707.

DA SILVA, R. G., REYES, F. G. R., SARTORI, J. R., RATH, S. Enrofloxacin Assay Validation And Pharmacokinetics Following A Single Oral Dose In Chickens. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 29, 365–372.

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.

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-dihydro-4-oxo-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylic 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, DAVIS, R., MARKHAM, A., BALFOUR, J.A., 1996. Ciprofloxacin: an updated review of its pharmacology, therapeutic efficacy and tolerability. *Durgs*; 51: 1019-74.

DAVIS, JL., FOSTER, DM., PAPICH, MG., 2007. Pharmacokinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its active metabolite ciprofloxacin in calves. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 30: 564-571.

DE LA CAMPA A.G., BALSALOBRE, L., ARDANUY, C., FENOLL, A., PEREZ-TRALLERO, E., LIÑARES, J. & THE SPANISH PNEUMOCOCCAL INFECTION STUDY NETWORK G03/103, 2004: Fluoroquinolone resistance in penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* clones, Spain. *Emerg. Infect. Dis.*, 10(10): 1751-1759.

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.

DE LUCAS A., J.J., NAVARRO B, J.L., RUBIO A,S., VIGNOLO B, P.E., ASIS B, V.C. GONZALEZ A, F., RODRIGUEZ A,C., 2008. Pharmacokinetic Behaviour Of Enrofloxacin In Greater Rheas Following A Single-Dose Intramuscular Administration. *The Veterinary Journal*;175: 136–138.

DOMAGALA, J.M., 1994: Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. *J. Antimicrob. Chemother*; 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, 94-115, 278 392-420.

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.

DOUGHERTY, T.H., BEAULIEU, D. & BARRETT, J.F., 2001: New quinolones and the impact on resistance. *DDT*.;6(10): 529-536 .

DOUNIS, E., KORAKIS, T., ANASTASIADIS, A., KANELLAKOPOULOU, K., ANDREOPOULOS, A., GIAMARELLOU, H., 1996. Sustained release of fleroxacin in vitro from lactic acid polymer. *Bull Hosp Jt Dis*.;55(1):16-9.

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.

DUNBAR, L.M., WUNDERINK, R.G., HABIB, M.P., SMITH, L.G. TENNENBERG, A.M., KHASHAB, M.M., WIESINGER, B.A., XIANG, J.X., ZADEIKIS, N. & KAHN J.B., 2003: High-dose, short-course levofloxacin for community-acquired pneumonia: a new treatment paradigm. Clin. Infect. Dis., 37: 752-760.

DURHAM EJ, AMYES SGB, DALHOFF A & THOMSON CJ.(2000) Mecanismo de actividad de moxifloxacino frente a Staphylococcus aureus in vitro. En: Moxifloxacino en la práctica, volumen 1. Ed: Adam D y Finch R, Prous Science. S.A. Barcelona, pp: 61-74 European Medicines Agency – 2012. www.ema.europa.eu/. Información técnica acerca de difloxacin, ibafloxacino, sarafloxacino, enrofloxacino y flumequina, proporcionada por la Agencia Europea del Medicamento y expuesta en su página web.

DUVAL, J.M., BUDSBERG, SC, 1995. Cortical bone concentrations of enrofloxacin indogs. American Journal of Veterinary Research.; 56 (2): 188-192.

EL-BANNA, HA. Y ABO-EL-SOUD, K., 1998. Disposition kinetics of ciprofloxacin in lactating goats. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 105: 35-38. EMEA, 2006.

ELMAS M, U" NEY.K., YAZAR.E., KARABACAK A., BU"NYAMIN,2007.Pharmacokinetics Of Enrofloxacin Following Intravenous And Intramuscular Administration In Angora Rabbits. Veterinary Science; 82:242–245

ELMAS M., TRAS B, KAYA S., BAS A.L., YAZAR E., YARSAN E.,2001.Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular administration in Angora goats. The Canadian journal of veterinary research;65,64-67

ELSHEIKH, H.A., W. TAHA, A.A., KHALAFALLAH, A.I., M.OSMAN, I. A., 2002.Disposition Kinetics Of Enrofloxacin (Baytril 5%) In Sheep And Goats Following Intravenous And Intramuscular Injection Using A Microbiological Assay.Veterinary Science ;73:125–129

ENSINK, JM., 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.

EMMERSON, A.M. & JONES, A.M., 2003. The quinolones: decades of development and use. J. Antimicrob. Chemother. 51(S1): 13–20.

ESCUDERO, 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.

ESCUDERO, E., MARÍN, P., CÁRCELES, CM., RAMIREZ, M.J., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., 2011, Pharmacokinetic and milk penetration of a difloxacin long-acting poloxamer gel

formulation with carboxy-methylcellulose in lactating goats. *The Veterinary Journal*, 188 (1): 92-95.

ESPADA, M. & AVENDAÑO, C. 1993. Fármacos que actúan sobre receptores intracelulares (II). Fármacos que interaccionan con los ácidos nucleicos. En: *Introducción a la química farmacéutica*. 1º ed. Ed: Avendaño C, Interamericana-McGraw-Hill. Madrid. Pág: 525-548.

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

EPSTEIN, B.J., GUMS, J.G. & DRLICA, K., 2004: The changing face of antibiotic prescribing: the mutant selection window. *Ann. Pharmacother.*, 38: 1675-1682 . 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.

FERA, MT., MAUGERI, TL., GIANNONE, M., GUGLIANDOLO, E., LA CAMERA, G., BLANDINO, M., CARBONE, M. 2003: In vitro susceptibility of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* to different antimicrobial agents. *International Journal of antimicrobial agents.*, 21: 488-491.

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.

FERRÁNDIZ, M.J., FENOLL, A., LIÑARES J., & DE LA CAMPA A.G., 2000: Horizontal transfer of *parC* and *gyrA* in fluoroquinolone-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 44(4): 840-847

FICHA TÉCNICA, ROXACIN®. 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.

F. KOC, K. UNEY , M. ATAMANALP , I. TUMER , G. KABAN, 2009. Pharmacokinetic Disposition Of Enrofloxacin In Brown Trout (*Salmo Trutta Fario*) After Oral And Intravenous Administrations. *Aquaculture* ;295:142–144

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.

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.

FULZELE, S.V., SATTURWAR, P.M., DORLE, A.K., 2007. Novel biopolymers as implant matrix for the delivery of ciprofloxacin: biocompatibility, degradation, and in vitro antibiotic release. *J Pharm Sci.*;96(1):132-44. 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 OVANDO, H., GORLA, N., POLONI, G., TROTTI, N., PRIETO, G., ERRECALDE, C., 2000. Intravenous pharmacokinetics of ciprofloxacin in goats. *International Journal of Antimicrobial Agents*; 15:77-79

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.

GAYNES, R., RIMLAND, D., KILLUM, E., LOWERY, H. K., JOHNSON II T. M., KILLGORE, G. & TENOVER, F. C., 2004: Outbreak of *Clostridium difficile* infection in a long-term care facility: association with gatifloxacin use. *Clin. Infect. Dis.* 38(5):640-645.

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.

GIBALDI, M. & PERRIER, P., 1982. *Pharmacokinetics* 2nd 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., ROMÁ, E. & PLANELLS, C., 1999: Quinolonas. Breve panorama de sus efectos adversos. *Rev. Esp. Quimioterap.*, 12(3):177-180.

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. 3^o ed. Ed: Drobnic L. Ergon. Madrid. Pág: 323- 348.

GOLDSTEIN, F., 2006. The potential clinical impact of low-level antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *France Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2007) 59, 1–4.

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.

GOUDAH.A., ABO-EL-SOUD.K, Pharmacokinetics, urinary excretion and milk penetration of levofloxacin in lactating goats. 2008 *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 32, 101–104,

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.

GROBBEL, M., LÜBKE-BECKER, A., WIELER, L.H., FROYMAN, R., FRIEDERICHS, S., FILIOS, S., 2007. Comparative quantification of the in vitro activity of veterinary fluoroquinolones. *Vet Microbiol.* ;124(1-2):73-81.

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.

GUPTA, H., AQIL, M., KHAR, R.K., ALI, A., BHATNAGAR, A., MITTAL, G., 2010a. Biodegradable levofloxacin nanoparticles for sustained ocular drug delivery. *J Drug Target*. 2010 Aug 3.

GUPTA, H., AQIL, M., KHAR, R.K., ALI, A., BHATNAGAR, A., MITTAL, G., 2010b. Sparfloxacin-loaded PLGA nanoparticles for sustained ocular drug delivery. *Nanomedicine*.;6(2):324-33.

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. Quimioterap.*, 17(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 intragastric administration to mares. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 64: 171-177.

HARITOVA, A., LASHEV, L., PASHOV, D., 2003. Pharmacokinetics Of Enrofloxacin In Lactating Sheep. *Veterinary Science* ;74:241–245.

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.

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.

HIASA, H., YOUSEF, D.O. & MARIANS, K.J., 1996: DNA strand cleavage is required for replication fork arrest by a frozen topoisomerase-quinolone-DNA ternary complex. *J. Biol. Chem.*, 271(42): 26424–26429.

HOOPER, D.C., 2000a: Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. *Clin. Infect. Dis.*, 31(Suppl 2): S24-28.

HOOPER, D.C., 2000b: New uses for new and old quinolones and the challenge of resistance. *Clin. Infect. Dis.*, 30: 243-254.

HOOPER, D.C., 2002: Fluoroquinolone resistance among gram-positive cocci. *Lancet infect. Dis.*, 2(9): 530-538.

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, H.K., EL-LEITHY, I.S., MAKKY, A.A., 2010. Mucoadhesive nanoparticles as carrier systems for prolonged ocular delivery of gatifloxacin/prednisolone bitherapy. *Mol Pharm.*; 7(2):576-85.

IDOWU, O.R., PEGGINS J.O., CULLISON, R., BREDOW, J.V., 2010. Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in lactating dairy cows and beef steers following intravenous administration of enrofloxacin. *Veterinary Science*.

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.

JACOBY G.A., CHOW, N. & WAITES, K.B., 2003: Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 47(2): 559-562.

JAIN, D., CARVALHO, E., BANERJEE, R., 2010. Biodegradable hybrid polymeric membranes for ocular drug delivery. *Acta Biomater.*; 6(4):1370-9.

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.

JOIN-LAMBERT, O.F., MICHEA-HAMZEHPOUR M., KOHLER, T., CHAU, F., FAURISSON, F., DAUTREY, S., VISSUZAIN, C., CARBON, C. & PECHERE, J., 2001: Differential selection of multidrug efflux mutants by trovafloxacin and ciprofloxacin in an

experimental model of *Pseudomonas aeruginosa* acute pneumonia in rats. *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 45(2): 571-576.

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 Chemoter.* 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 eggs 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. Pharmacokinetics of enrofloxacin in newborn and 1-week-old calves. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 20, 470-482.

KAARTINEN, L., PANU, S. AND PYÖRÄLÄ, S., 1997. Pharmacokinetics Of Enrofloxacin In Horses After Single Intravenous And Intramuscular Administration. *Equine veterinary journal*; 29 (5) 378-381

KAMALI, F., ASHTON, C.H., MARSH, V.R., COX, J., 1998. Assessment of the effects of combination therapy with ciprofloxacin and fenbutenol on the central nervous systems of healthy volunteers by quantitative electroencephalography. *Antimicrob Agents Chemoter*; 42: 1256-8.

KATO, J., NISHIMURA, Y., IMAMURA, R., NIKI, H., HIRAGA, S. & SUZUKI, H., 1990. New topoisomerase essential for chromosome segregation in *E. coli*. *Cell* 63,393-404.

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.

KHARGHARIA, S., BARUA, CC, KHANIKAR, HN., MOHAN, P., 2008. Kinetics studies of enrofloxacin after intravenous administration in yak. *Pharmacologyonline* 3: 545-551.

KAWAKAMI, J., YAMAMOTO, K., ASANUMA, A., YANAGISAWA, K., SAWADA, Y. & IGA, T., 1997: Inhibitory effect of new quinolones on GABA(A) receptor-mediated response and its potentiation with felbinac in *Xenopus* oocytes injected with mouse-brain mRNA: correlation with convulsive potency in vivo. *Toxicol Appl Pharmacol.* 145(2): 246-54.

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.

KNOLL, U., GLÜNDER, G., KIETZMANN, M. Comparative Studie Of The Plasma Pharmacokinetics And Tissue Concentrations Of Danofloxacin And Enrofloxacin In Broiler Chickens. *J. Vet.Pharmacolo. Therapp*; 22:239-246.

KORDICK, D.L., PAPICH, M.G., BREITSCHWERDT, E.B., 1997. Efficacy of enrofloxacin or doxycycline for treatment of *Bartonella henselae* or *Bartonella clarridgei* infection in cats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; 41 (11):2448-55.

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.

KUMAR, S.D. SINGH AND C. JAYACHANDRAN, 2003. Pharmacokinetics Of Enrofloxacin And Its Active Metabolite Ciprofloxacin And Its Interaction With Diclofenac After Intravenous Administration In Buffalo. *The Veterinary Journal* ;165:302–306

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.

LEES, P. & SHOJAEE 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.

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.

LI X-Z. & NIKAIDO, H., 2004: Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*.64(2):159-204.

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.

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.

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.

MADARAS-KELLY, K.J., LARSSON, A.J. & ROTSCHAFER, J.C., 1996: A pharmacodynamic evaluation of ciprofloxacin and ofloxacin against two strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemoter.*,37(4):703-710.

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.

MAHMOOD, I.,2007. Application of allometric principles for the prediction of pharmacokinetics in human and veterinary drug development.*Advanced Drug Delivery Reviews* 59 1177–1192

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.

MANCEBO GONZÁLEZ ALMUDENA, 2011. Estudio de formulaciones convencional y nuevas formulaciones deliberación retardada de danofloxacino en la cabra. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.

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.

MARÍN, P., ESCUDERO, E., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., RAMÍREZ, M.J., CÁRCELES, C.M., 2010a. Pharmacokinetics and milk penetration of difloxacin after a long-acting formulation for subcutaneous administration to lactating goats. *J Dairy Sci.* 2010 Jul; 93(7):3056-64.

MARÍN P, ESCUDERO E, FERNÁNDEZ-VARÓN E, CÁRCELES CM, CORRALES JC, GÓMEZ-MARTÍN A, MARTÍNEZ I., 2010b. Short communication: Fluoroquinolone susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from caprine clinical mastitis in southeast Spain. *J Dairy Sci.* 2010 Jul; 93(10):5243-5245.

MARÍN,P., ÁLAMO,L., ESCUDERO, E., GÓMEZ-MARTÍN,A., CORRALES,J.C., DE LA FE, C., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., CÁRCELES,C.M., 2012.Fluoroquinolone susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from commercial rabbit farms in Spain.*Veterinaryrecord.bmj.com* , 2012..

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.

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.

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.

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. *AntimicrobAgents 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. MERCK VETERINARY MANUAL, 1998. Quinolones. In: Aiello, S., Mays, A. (Eds), Title. Merck & Co., Whitehouse Station, NJ, pp. 1761-1765.

McCUSKER, M.E., HARRIS, A.D., PERENCEVICH, E. & ROGHMANN., M-C., 2003: Fluorquinolone use and *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Emerg. Infect. Dis.*, 9(6): 730-733.

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., SÁNCHEZ, S.F. & JONES, D.G., 2004: Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 27(6):503-14.

MELLA, S., M., ACUÑA, M.G., L., MUÑOZ, L.M., Q., PEREZ, C.Q., LABARCA, J., L., GONZALEZ, G., HELIABELLO, R., DOMINGUEZ, M., ZEMELMAN, R., 2000. Quinolonas: aspectos generales sobre su estructura y clasificación. *Rev Chil Infect.*; 17 (1): 53-66.

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.

MULLER, M., STAB, H., BRUNNER, M., MOLLER, J.G., 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.

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.

NATTHASIT TANSAKUL¹, AMNART POAPOLATHEP¹, NARUAMOL KLANGKAEW¹,

NAPASORN PHAOCHOOSAK¹ AND WANIDA PASSUDARUK, 2005. Pharmacokinetics And Withdrawal Times Of Enrofloxacin In Ducks kasetart .*J. (Nat. Sci.)* ;39 : 235 - 239

NAVARRE, C.B., MARLEY, S., *Antimicrobials Drug Use in Sheep and Goats.* In "Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine" 32, 519-528. 2006 .Prescott JF, Baggot JD y Walker RD, Blackwell Scientific Publications. Iowa Fourth Edition.

NCCLS (WIKLER, M.A., COCKERILL, F.R., CRAIG, W.A., DUDLEY, M.N., ELIOPOULOS, F.M., HECHT, M.D., HINDLER, J.F., LOW, D.E., SHEEHAN, D.J., TENOVER, F.C., TURNIDGE, J.D., WEINSTEIN, M.P., ZIMMER, B.L., FERRARO, M.J. & SWENSON, J.M), 2006: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (Normas NCCLS sobre antibiograma), vol 26(3); Sixteenth informational supplement. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400. Wayne. PA. USA. ISBN: 1-56238-588-7.

NCCLS, 2002: Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals; approved standard. NCCLS document, M31-A2. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400. Wayne. PA. USA. ISBN: 1-56238-461-9.

NEER, T.M., 1988. Clinical pharmacologic features of fluoroquinolone antimicrobials drugs. *Journal of the American Veterinary Medical Association.*; 193 (5): 577-580.

NESSEEM, D.I., 2011. Ophthalmic delivery of sparfloxacin from in situ gel formulation for treatment of experimentally induced bacterial keratitis. *Drug Test Anal.*; 3(2):106-15. doi: 10.1002/dta.170.

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.

ODENHOLT, I., LOWDIN, E., GUSTAFSSON, I. & CARL, O., 2002: Pharmacodynamics of moxifloxacin against *Streptococcus pyogenes* in an in vitro kinetic model. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 46(6): 2046-8.

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., HAESEBROUCK, 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.

OLIVEIRA, L., LANGONI, H., HULLAND, C., AND RUEG, P.L., 2012. Minimum inhibitory concentrations of *Staphylococcus aureus* recovered from clinical and subclinical cases of bovine mastitis. *Journal of Dairy Science* 95, 1913-1920.

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).

ORDEN J.A., RUIZ SANTA QUITERIA, J.A., CID, D., DIEZ, R., MARTINEZ, S., Y DE LA FUENTE, R., 2001. Quinolone resistance in potentially pathogenic and non-pathogenic *Escherichia Coli* strains isolated from healthy ruminants. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48, 421-424.

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.

PATON, J.H., REEVES, D.S., 1992. Adverse reactions to fluorquinolones. *Adverse Drug Reaction Bull*; 153: 575-8.

PASTOR, A. & CANTÓN, E., 1999: Interacciones de las bacterias y el antimicrobiano durante la fase de efecto postantibiótico. *Rev. Esp. Quimioterap.*,12(4).

PELLERIN, J.L., BOURDEAU, P., SEBBAG, H., PERSON, J.M., 1988. Epidemiosurveillance of antimicrobial compound resistance of *Staphylococcus intermedium* 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.

PÉREZ-TRALLERO, E., FERNÁNDEZ-MAZARRASA, C., GARCÍA-REY, C., BOUZA, E., AGUILAR, L., GARCÍA-DE-LOMAS, J., BAQUERO, G. & THE SPANISH SURVEILLANCE GROUP FOR RESPIRATORY PATHOGENS, 2001: Antimicrobial susceptibilities of 1684 *Streptococcus pneumoniae* and 2039 *Streptococcus pyogenes* isolates and their ecological relationships: results of a 1-year (1998-1999) multicenter surveillance study in Spain *Antimicrob. Agents Chemother.*,45(12): 3334-3340.

PESTOVA, E., MILLICHAP, J.J., NOSKIN, G.A. & PETERSON, L.R., 2000: Intracellular targets of moxifloxacin: a comparison with other fluoroquinolones. *J. Antimicrob. Chemother.*, 45: 583-590.

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., 1999. Mechanisms of fluoroquinolone resistance: An update 1994-1998. *Drugs*; 58 (Suppl. 2): 11-18.

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., JONHSON, 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., 2000: Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemoter*, 44 (9): 2233-2241.

PROOST JH. MULTIFIT Y PKPDFIT PROGRAMS. 1994. Department of Pharmacology and Therapeutics. University Centre for Pharmacy. University of Groningen

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.

PRESCOTT, J.F, YIELDING, K.M.,1990. In vitro Susceptibility of Selected Veterinary Bacterial Pathogens to Ciprofloxacin, Enrofloxacin and Norfloxacin. Can J Vet Res 1990; 54: 195-197.

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.

QUINTILIANI, M.D., 2004: Using pharmacodynamic and pharmacokinetic concepts to optimize treatment of infectious diseases. Infect. Med., 21(5): 219-233.

QIAN-JI GUO, LING-LI HUANG, KE FANG, YU-LIAN WANG, DONG-MEI CHEN, YAN-FEI TAO, MENG-HONG , DAIZHEN-LI LIU, DA-PENG PENG & ZONG-HUI YUAN, 2009. Pharmacokinetics Of Enrofloxacin And Its Metabolite Ciprofloxacin In Chicken Based On Retrospective Data, Incorporating First-Pass Metabolism. Vet. Pharmacol. Therap. 33, 84–94,

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: 56L.

RANDALL,P., COOLES,S.W., PIDDOCK, L.J.V., WOODWARD, M.J., 2004. Mutant prevention concentrations of ciprofloxacin and enrofloxacin for *Salmonella enterica*.*Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2004) 54, 688–691,3-569.

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.

REGLAMENTO (CE) N o 470/2009 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 6 de mayo de 2009 por el que se establecen procedimientos comunitarios para la fijación de los límites de residuos de las sustancias farmacológicamente activas en los alimentos de origen animal, se deroga el Reglamento (CEE) n o 2377/90 del Consejo y se modifican la Directiva 2001/82/CE del Parlamento Europeo y del Consejo y el Reglamento (CE) n o 726/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo. *Diario Oficial de la Unión Europea* L 152/11. 16/06/2009.

RESUMEN CIENTÍFICO ICAAC, 2006: 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). San Francisco: American Society of Medicine. Ed.

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., AMBLR, 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.

RIEGELMAN S, COLLIER P. 1980, The application of statistical moment theory to the evaluation of in vivo dissolution time and absorption time. J Pharmacokinet Biopharm. Oct;8(5):509-34.

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.

ROBICSEK, A., STRAHILEVITZ J, JACOBY G.A., MACIELAG M., ABBANAT D., PARK CH.P., BUSH K. &HOOPER D.C., 2006: Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase Nat. Med. 12(1): 83 – 88.

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-substituted-pyrrolinyl) quinolone-3-carboxylic acids. J Med Chem; 31: 1598-1611.

ROUGIER, S., GALLAND, D., BOUCHER, S., BOUSSARIE, D., VALLÉ, M., 2006. Epidemiology and susceptibility of pathogenic bacteria responsible for upper respiratory tract infections in pet rabbits. *Vet Microbiol.*;115(1-3):192-8.

ROWLAND.M., TOZER.T., 2011. *Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Concepts and Applications*. 4th Edition. Lippincott Williams & Wilkins

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.

RUIZ J., 2003: Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *J. Antimicrob. Chemother.*, 51: 1109-1117.

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.

SANDERS C.C., 2001: Mechanisms responsible for cross-resistance and dichotomous resistance among the quinolones. *Clin. Infect. Dis.*, 32 (Suppl 1): S1-S8.

SÁRKÖZY, G., 2001. Quinolones: a class of antimicrobial agents. *Vet. Med.- Czech*, 46 (9-10). 257-274.

SANJIB KHARGHARIA, CHANDANA CHOUDHURY BARUA, H.N. KHANIKAR, P. MOHAN, 2008. Kinetic Studies Of Enrofloxacin After intravenous Administration In Yak. *Pharmacologyonline*; 3: 545-551.

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.

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.

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).

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.

SHIMIZU, M., TAKASE, Y., NAKAMURA, S., KATAE, H., MINAMI, A., 1975: Pipemidic acid, a new antibacterial agent active against *Pseudomonas aeruginosa*: in vitro properties. Antimicrob. Agents. Chemoter., 8: 132-138.

STEIN, G.E., 2000. The methoxyfluoroquinolones: gatifloxacin and moxifloxacin Infect. Med., 17(8): 564-570.

SCHONING, G., PLONAIT, H., 1990. Metaphylaxis and therapy of the MMA syndrome of sows with Baytril. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.; 97 (1): 5-10.

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.

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.

STOCKLEY, I.H. 2004. *Interacciones farmacológicas*. Pharma Editores S. L. Barcelona.

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.

SULTANA, Y., AQIL, M., ALI, A., ZAFAR, S., 2006. Evaluation of carbopol-methyl cellulose based sustained-release ocular delivery system for pefloxacin mesylate using rabbit eye model. *Pharm Dev Technol.*;11(3):313-9.

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.

TALAN, D.A., 2001: Clinical perspectives on new antimicrobials: focus on fluoroquinolones. *Clin. Infect. Dis.*, 15;32(1): S64-71.

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.

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.

TITOS ARCOS, J.C., 2010. Estudio de formulaciones convencional y nuevas formulaciones de liberación retardada de enrofloxacin en la cabra. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.

TOUTAIN, P.L. & BOUSQUET-MELOU, A., 2004a. Bioavailability and its assessment. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 27: 455-466.

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., 2004b. 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. & JACOBY, A., 2002: Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. Proc. Natl. Acad. Sci. 99: 5638-5642.

TRAN, J.H., JACOBY, G.A. Y HOOPER, D.C., 2005. Interaction of the plasmid encoded 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 ciprofloxacin resistant 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 β -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^o2): 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.

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.

WAKNIS V, JONNALAGADDA S., 2011. Novel poly-DL-lactide-polycaprolactone copolymer based flexible drug delivery system for sustained release of ciprofloxacin. *Drug Deliv.* 18(4):236-45.

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.

WETZSTEIN, H.G., SCHEMEER, N. & KART. W., 1997: Degradation of the fluoroquinolone enrofloxacin by the brown rot fungus *Gloeophyllum striatum*: identification of metabolites. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 4272-81.

WETZSTEIN, H.G., 2005. Comparative Mutant Prevention Concentrations of Pradofloxacin and Other Veterinary Fluoroquinolones Indicate Differing Potentials in Preventing Selection of Resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, p. 4166–4173 Vol. 49.

WILSON, D.A., ROUNSON, G.N., 1979. The recovery period following exposure of bacteria to penicillins. *Chemother.*, 25: 14-22.

WISE, R., 1999: A review of the clinical pharmacology of moxifloxacin, a new 8-methoxyquinolone, and its potential relation to therapeutic efficacy *Clin. Drug Invest.*, 17(5): 365-388.

XIE, S., ZHU, L., DONG, Z., WANG, X., WANG, Y., LI, X., ZHOU, W., 2011. Preparation, characterization and pharmacokinetics of enrofloxacin-loaded solid lipid nanoparticles: influences of fatty acids. *Colloids Surf B Biointerfaces.*; 83(2):382-7.

WOLFSON, J.S., HOOPER, D.C., 1989. Fluoroquinolone 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., ROTSCHAFER, 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.

YIN, L.F., HUANG, S.J., JIANG, S.G., ZHAO, C.J., PEI, Z.Q., ZHANG, Q., 2011. In vitro and in vivo evaluation of levofloxacin sustained-release capsules. *Drug Dev Ind Pharm.*;37(1):33-40.

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-pyrrolidinyl)-1-cyclopropyl-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acids. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 44:1074-1085.

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.

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.

10.-ABREVIATURAS

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS:

- AIC**: Criterio de información de AKAIKE.
- C.V.**: Coeficiente de variación.
- n**: número de datos analizados.
- N.S.**: Nivel de significación.
- P**: Probabilidad.
- R²**: Coeficiente de correlación.
- RSD**: Desviación estándar de medidas repetidas.
- S.D.**: Desviación estándar.

PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

- AUC**: Área bajo la curva, calculada según métodos no compartimentales.
- Cl**: Aclaramiento plasmático calculado en función del área bajo la curva.
- C_{máx}**: Concentración periférica máxima (administración intravenosa), concentración plasmática máxima (administración intramuscular).
- F**: Biodisponibilidad.
- k_a**: Constante aparente de absorción.
- k₁₀**: Constante de eliminación.
- k₁₂**: Constante de transferencia al compartimento periférico.
- k₂₁**: Constante de retorno desde el compartimento periférico.
- λ₁**: Constante híbrida de disposición rápida.
- λ₂**: Constante híbrida de disposición lenta.
- MAT**: Tiempo medio de absorción.

-MRT: Tiempo medio de residencia.

- $t_{m\acute{a}x}$: Tiempo en el que se alcanza la concentración periférica máxima (administración intravenosa), tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima (administración intramuscular y subcutánea).

- $t_{1/2}$: Tiempo de vida media o vida media del fármaco.

- $t_{1/2ka}$: Tiempo de vida media aparente de absorción.

- $t_{1/2\lambda_1}$: Tiempo de vida media de la fase de disposición rápida.

- $t_{1/2\lambda_z}$: Tiempo de vida media de la fase disposición lenta.

- V_c : Volumen de distribución aparente en el compartimento central.

- V_p : Volumen de distribución aparente en el compartimento periférico.

- V_{ss} : Volumen de distribución aparente en estado estacionario.

- V_z : Volumen de distribución aparente en función del área bajo la curva.

- W_i : es el factor de ponderación.

OTRAS:

-CMI: Concentración Mínima Inhibitoria. Concentración menor de antibacteriano capaz de inhibir el crecimiento de 10^5 bacterias en 1 ml de medio de cultivo, tras 18-24 horas de incubación.

-CPM: Concentración Preventiva de Mutantes. Concentración menor de antibacteriano capaz de inhibir el crecimiento de 10^9 bacterias en 1 ml de medio de cultivo, tras 24-48 horas de incubación.

-EPA: Efecto postantibiótico.

-g: Constante gravitatoria (980 cm/s^2).

-HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución.

-FL: Fluorescencia

-IM: Intramuscular.

-IV: Intravenosa.

-LOQ: Límite de cuantificación.

-NAC: Neumonía adquirida en comunidad o extrahospitalaria.

-PK-PD: Farmacocinética-Farmacodinamia.

-p.o.: por vía oral.

-SC: Subcutánea.

-SNC: Sistema Nervioso Central.

-spp.: especies.