



UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE MEDICINA

ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE FORMULACIONES POLIMÉRICAS DE LIBERACIÓN SOSTENIDA PARA DANOFLOXACINO

Memoria presentada por
Almudena Mancebo González,
para optar al grado de Doctor
en Farmacia

2011

DEDICATORIA

A mi padre, Jose Antonio, la persona más luchadora que he conocido. Por su cariño y su apoyo incondicional durante todos estos años. Gracias por todo lo que soy, lo que me has enseñado y lo que me enseñas cada día.

“La única lucha que se pierde es la que se abandona”

AGRADECIMIENTOS

Con estas líneas me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que han colaborado en la realización del presente trabajo, y especialmente:

A mis directores:

- El Dr. Emilio Fernández-Varón, por brindarme la oportunidad de formar parte del proyecto. Por su dedicación e inestimable ayuda, tanto en lo profesional como en lo personal. Por acogerme cuando me sentía perdida y llenarme de entusiasmo y motivación. Su capacidad de organizar, resolver y dirigir la investigación, han sido fundamentales en todo momento.
- Al Dr. Marín Carrillo, por su implicación, seguimiento y paciencia en la realización de la Tesis. Por su constante apoyo y asesoramiento, así como la confianza depositada.

Al Dr. Carlos Cárcelos Rodríguez, un ejemplo de profesionalidad, su ayuda en aspectos de farmacocinética y su contribución a la Tesis han sido incuestionables.

Al Dr. Alberto Espuny Miró, por sus sugerencias e ideas de las que tanto provecho he sacado. Gracias por hacerme un sitio a vuestro lado.

A la Dra. Elisa Escudero Pastor por su inestimable colaboración y ayuda.

A Vero, por su calidez y compañerismo, por enseñarme las técnicas necesarias para desenvolverme con el HPLC. Gracias por la paciencia y la comprensión. Y porque sin ella, los desayunos no hubieran sido tan dulces.

A la Dra. M^a Sacramento Díaz Carrasco, por guiarme, aconsejarme y escucharme cuando más lo necesitaba. Por fomentar mis inquietudes y creer en mí. Una gran amiga, una excelente profesional y una maravillosa persona. Espero poder contar siempre contigo.

Al Director de la Granja y a su equipo de trabajo por poner a nuestra disposición los animales empleados en el presente trabajo.

A los alumnos internos de la *Unidad Docente de Farmacia, Farmacología y Terapéutica Veterinaria de la Facultad de Veterinaria*, por su colaboración en la fase experimental del estudio y por su entusiasmo.

A mi familia, por estar siempre a mi lado y enseñarme que la perseverancia y el esfuerzo son el camino para lograr objetivos.

A Ana Patricia, por sus ánimos y su alegría, por acompañarme en los momentos buenos y levantarme en los malos.

A mis amigos, por quererme tal y como soy, por su apoyo y confianza.

Gracias, de todo corazón.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	7
2.1.- Introducción histórica	8
2.2.- Estructura química y clasificación	11
2.2.1.- Estructura química	11
2.2.2.- Clasificación	13
2.3.- Relación estructura y actividad	19
2.4.- Propiedades físicas y químicas	25
2.5.- Mecanismo de acción	28
2.6.- Espectro antibacteriano	34
2.6.1.- Actividad frente a cocos Gram positivos	35
2.6.2.- Actividad frente a Gram negativos	38
2.6.3.- Actividad frente a Gram negativos no fermentadores	39
2.6.4.- Actividad frente a anaerobios	39
2.6.5.- Actividad frente a patógenos atípicos	40
2.7.- Efecto postantibiótico de quinolonas	41
2.8.- Resistencias bacterianas	45
2.8.1.- Alteraciones en las dianas	46
2.8.2.- Alteraciones en la permeabilidad bacteriana	48
2.8.3.- Resistencia por los sistemas de eflujo	49
2.8.4.- Otros mecanismos de resistencia	51
2.9.- Integración farmacocinética-farmacodinámica	52
2.10.- Utilización clínica de las fluorquinolonas	55

2.11.- Toxicidad y efectos adversos	61
2.11.1.- Relación entre estructura y efectos adversos	62
2.11.2.- Efectos específicos según órgano o sistema afectado	64
2.12.- Interacciones	70
2.12.1.- Interacciones con medicamentos	70
2.12.2.- Interacciones con alimentos	75
2.13.- Propiedades farmacocinéticas	75
2.13.1.- Absorción y biodisponibilidad	76
2.13.2.- Distribución	77
2.13.3.- Metabolismo y excreción	79
2.13.4.- Diferencias interespecíficas	81
2.13.5.- Penetración en leche	83
2.14.- Danofloxacino	85
2.14.1.- Estructura química y relación estructura-actividad	85
2.14.2.- Propiedades físicas y químicas	85
2.14.3.- Espectro antibacteriano	86
2.14.4.- Eficacia de danofloxacino en diferentes especies	88
2.14.5.- Indicaciones clínicas	91
2.14.5.1.- Indicaciones aprobadas por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. Ficha técnica	91
2.14.5.2.- Indicaciones aprobadas por la Food and Drug Administration (FDA)	92
2.14.5.3.- Posología, forma de administración y duración del tratamiento	93
2.14.5.4.- Contraindicaciones	94

2.14.6.- Toxicidad y efectos adversos	94
2.14.7.- Interacciones con medicamentos	96
2.14.8.- Propiedades farmacocinéticas	96
2.14.8.1.- Absorción y biodisponibilidad	96
2.14.8.2.- Distribución	99
2.14.8.3.- Metabolismo y excreción	103
3.- MATERIAL Y MÉTODOS	104
3.1.- Material	105
3.1.1.- Material fungible	105
3.1.2.- Productos y reactivos	105
3.1.3.- Aparataje	106
3.1.4.- Software informático	107
3.2.- Animales	107
3.3.- Métodos: Protocolo experimental	108
3.4.- Técnicas analíticas	110
3.5.- Validación de la técnica	111
3.6.- Análisis farmacocinético	112
3.6.1.- Análisis compartimental. Plasma	112
3.6.2.- Análisis no compartimental. Plasma	113
3.7.- Métodos estadísticos	113

4.- RESULTADOS	114
4.1.- Administración intravenosa de danofloxacino	115
4.2.- Administración subcutánea de danofloxacino	117
4.3.- Administración subcutánea de danofloxacino en solución del polímero P407 al 25%	119
4.4.- Administración subcutánea de danofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%	121
4.5.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos de danofloxacino 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%	124
4.6.- Parámetros farmacocinéticos farmacodinámicos obtenidos frente a cepas de <i>Staphylococcus Aureus</i>	126
5.- DISCUSIÓN	127
5.1.- Administración intravenosa de danofloxacino en cabras	128
5.1.1.- Modelo farmacocinético	128
5.1.2.- Parámetros farmacocinéticos	131
5.1.2.1.- Constantes híbridas de disposición rápida y lenta	131
5.1.2.2.- Microconstantes	132
5.1.2.3.- Tiempos de vida media y tiempo medio de residencia	135
5.1.2.4.- Volúmenes de distribución aparente	137
5.1.2.5.- Área bajo la curva	139
5.1.2.6.- Aclaramiento plasmático	140
5.2.- Administración subcutánea de danofloxacino en cabras	141
5.2.1.- Modelo farmacocinético	141

5.2.2.- Parámetros farmacocinéticos	143
5.2.2.1.- Tiempos de vida media, MRT y MAT	144
5.2.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	146
5.2.2.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	148
5.2.2.4.- Área bajo la curva y biodisponibilidad	148
5.3.- Administración subcutánea de danofloxacino en solución del polímero P407 al 25% en cabras	150
5.3.1.- Modelo farmacocinético	150
5.3.2.- Parámetros farmacocinéticos	151
5.3.2.1.- Tiempos de vida media, MRT y MAT	152
5.3.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	154
5.3.2.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	155
5.3.2.4.- Área bajo la curva y biodisponibilidad	156
5.4.- Administración subcutánea de danofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% en cabras	157
5.4.1.- Modelo farmacocinético	157
5.4.2.- Parámetros farmacocinéticos	158
5.4.2.1.- Tiempos de vida media, MRT y MAT	159
5.4.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	161
5.4.2.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	162
5.4.2.4.- Área bajo la curva y biodisponibilidad	162
5.5.- Integración farmacocinética/farmacodinámica	163

6.- CONCLUSIONES	167
7.- RESUMEN	171
8.- SUMMARY	174
9.- BIBLIOGRAFÍA	177
10.- APÉNDICES	216
10.1.- Tablas	217
10.2.- Gráficos	249
10.3.- Abreviaturas	265

1.-INTRODUCCIÓN

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

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

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

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

- Otro de los aspectos de mayor relevancia, es evitar la presencia de residuos en los productos alimenticios de origen animal destinados al consumo humano.

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

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

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

A las dosis apropiadas, las fluoroquinolonas son bactericidas, presentando un patrón concentración dependiente y un prolongado efecto postantibiótico (Walker, 2000). El conocimiento y monitorización de estos antimicrobianos, especialmente sus características farmacocinéticas y farmacodinámicas frente a patógenos determinados,

permite optimizar el régimen de dosificación, para evitar la aparición de mutantes resistentes y conseguir el éxito clínico (Aminimanizani y cols., 2001).

Nuevas fluoroquinolonas han sido introducidas en el campo de la terapéutica en los últimos diez años. Estos nuevos agentes muestran una aumentada actividad frente a Gram positivos y anaerobios, y retienen la actividad frente a Gram negativos, propia de las quinolonas precedentes (Aminimanizani y cols., 2001).

Danofloxacino es una fluorquinolona desarrollada exclusivamente para ser usada en medicina veterinaria. Tiene una rápida actividad bactericida contra un amplio rango de patógenos responsables de enfermedades de gran relevancia clínica y económica (Escudero y cols., 2007).

Por otro lado, la liberación sostenida de fármacos administrados por vía parenteral ha adquirido una importancia creciente en el desarrollo de nuevas formulaciones farmacéuticas. Esto se manifiesta de forma especial en la industria farmacéutica orientada a la Sanidad Animal, implicada en la generación de formulaciones de liberación sostenida para algunos fármacos, tanto para animales de compañía como de producción (Matschke y cols., 2002). Resulta interesante poder administrar el medicamento con amplios intervalos, lo que supone un menor coste y un menor estrés de manejo de los animales (Sun y cols., 2002). Las ventajas potenciales de una absorción sostenida son varias: se utiliza menos cantidad de fármaco, lo que reduce los efectos colaterales y la acumulación en tratamientos prolongados; se mejora la eficiencia del tratamiento, al reducir la fluctuación de las concentraciones estacionarias y al aumentar la biodisponibilidad (Longer y Robinson, 1987). Se han estudiado formulaciones de liberación sostenida en varias quinolonas, como levofloxacino (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 (Cabanes y cols., 1995; Xie y cols., 2011) y fleroxacino (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 sostenida. Como macromoléculas se utilizan polímeros sintéticos como polivinilpirrolidona (PVP), polietilenglicol o metilcelulosa (Sun y cols., 2002). También puede retardarse la absorción mediante la modificación de la viscosidad del medicamento. Así, el P407 (70% polioxietileno + 30% polioxipropileno) es un polímero que presenta una baja toxicidad, buena compatibilidad con muchos fármacos y alta capacidad de solubilización. Estudios realizados con ibuprofeno o lamotrigina en formulaciones con P407, mejoran su perfil de disolución y tasa de absorción (Newa y cols., 2008; Parmar Komal y cols., 2011). Además, el producto ha sido aprobado su uso por la Food and Drug Administration (FDA) en Estados Unidos.

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.

Por todo ello, este compuesto está siendo objeto de estudio para modificar las propiedades del fármaco y, consecuentemente su evolución en el organismo. Sin embargo, son muy pocos los medicamentos evaluados in vivo para su administración como gel inyectable y son, la interleukina-2, vancomicina y doxorubicina en ratas y ratones (Johnston y cols., 1992, Veyries y cols., 1999, Xuan y cols., 2011), y priroxicam en conejos (Xuan y cols., 2010).

Además, la adición de diferentes coadyuvantes pueden modificar su viscosidad y 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. La carboximetilcelulosa resulta ser, frecuentemente, bien tolerada (Zhang y cols., 2002), la cual ha sido elegida para este estudio.

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

1. Determinación de los parámetros farmacocinéticos de danofloxacino tras la administración intravenosa y subcutánea, en solución acuosa, en caprino.
2. Determinación de los parámetros farmacocinéticos de danofloxacino tras su administración subcutánea, en solución del polímero P407 al 25% y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, en caprino.
3. Establecimiento de los parámetros farmacocinéticos-farmacodinámicos de danofloxacino utilizando las CMI frente a distintas bacterias susceptibles de generar procesos infecciosos en ganado caprino.

2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1.- INTRODUCCIÓN HISTÓRICA.

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

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

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

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

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

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

El primer compuesto con un flúor en posición 6 fue la flumequina desarrollada en 1976. Hasta este momento, ninguno de los compuestos anteriores presentaba mejoras frente al ácido nalidíxico. Flumequina dio indicios de tener actividad frente a Gram positivos (Appelbaum y Hunter, 2000). Es activa frente *Enterobacterias*, incluyendo algunas cepas que eran resistentes al ácido nalidíxico, además de actividad contra la gonorrea no complicada (Emmerson y Jones, 2003).

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

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

En los últimos años, la investigación con fluoroquinolonas, concretamente en el ámbito de sus propiedades microbiológicas ha tenido como objetivos (Appelbaum y Hunter, 2000):

1. Mejorar su actividad frente al neumococo, incluyendo aquellas cepas resistentes a betalactámicos o a otros antibióticos como los macrólidos.
2. Mejorar la actividad frente a estafilococos, concretamente *Staphylococcus aureus* meticilin resistentes.
3. Mejorar la actividad, en general, contra cocos Gram positivos.
4. Mejorar la actividad frente a anaerobios.
5. Mejorar la actividad frente a cepas resistentes a ciprofloxacino y ofloxacino, incluyendo cepas de estafilococos y enterobacterias.

6. Mantener buena actividad frente a Gram negativos, incluyendo *Pseudomonas spp.* y distintas especies no fermentadoras.
7. Disminuir la velocidad de aparición de resistencias.

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

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

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

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

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

Tosufloxacino causa severa trombocitopenia y nefritis y por último clinafloxacino se asoció a fototoxicidad e hipoglucemia (Rubinstein, 2001; Fish, 2001; Mandell y cols., 2001).

2.2.- ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN.

2.2.1.- ESTRUCTURA QUÍMICA.

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

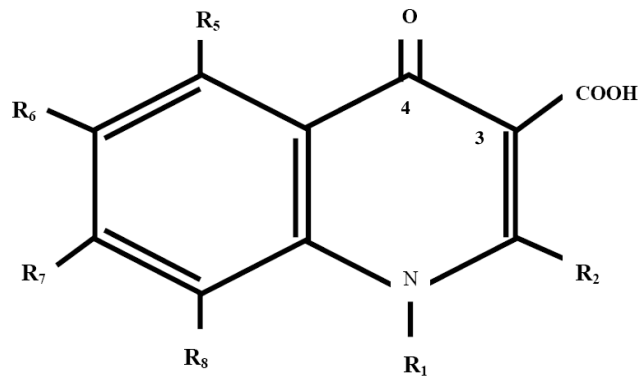


Figura 1.- Estructura básica o núcleo de las quinolonas.

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

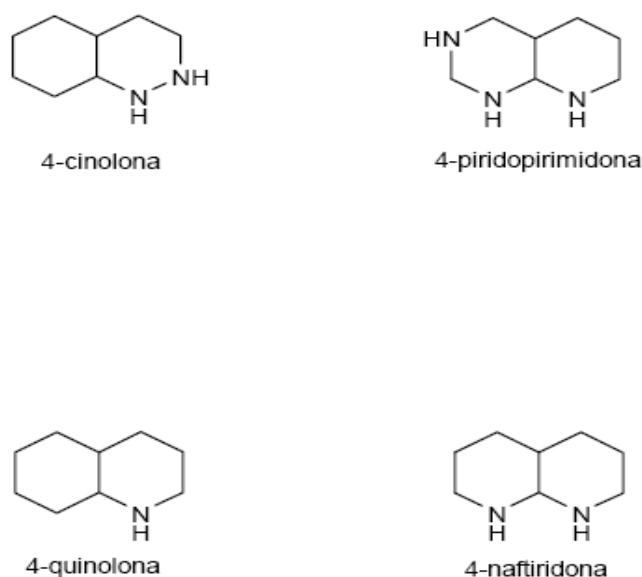


Figura 2.- Clasificación química de las quinolonas.

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

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

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

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

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

2.2.2.- CLASIFICACIÓN.

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

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

I.- PRIMERA GENERACIÓN:

1.- Derivados de la naftiridina:

1.1.- No fluoradas:

Ácido nalidíxico.

1.2.- Fluoradas:

Enoxacino.

Tosufloxacino.

2.- Derivados de la cinolina:

Cinoxacino

3.- Derivados de la piridopirimidina:

Ácido piromídico.

Ácido pipemídico o piperámico.

4.- Derivados de la quinoleína:

4.1.- Quinolonas no fluoradas:

Ácido oxolínico.

Acroxoxacino (antes rosoxacino).

Droxacino.

Miloxacino.

Tioxacino.

4.2.- Monofluoroquinolonas:

Flumequina.

II.- SEGUNDA GENERACIÓN (derivados de la quinoleína)

1.- Monofluoroquinolonas:

Amifloxacino.
Ciprofloxacino.
Irxoxacino o pifloxacino.
Levofloxacino
Norfloxacino.
Ofloxacino.
Pefloxacino.

2.- Difluoroquinolonas:

Difloxacino.
Lomefloxacino.

3.- Trifluoroquinolonas: Fleroxacino, Temafloxacino.

III.- TERCERA GENERACIÓN

1.- Monofluoroquinolonas (derivados de la quinoleína):

Grepafloxacino.
Gatifloxacino.

2.- Difluoroquinolonas (derivados de la quinoleína):

Sparfloxacino.

3.- Trifluoroquinolonas (derivados de la naftiridina):

Tosufloxacino.

IV.- CUARTA GENERACIÓN (derivados de la quinoleína)

1.- Monofluoroquinolonas:

Clinafloxacino.
Moxifloxacino.

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

- **Primera generación** (Figura 3): moléculas históricamente más antiguas y que definen los núcleos básicos de estos antimicrobianos. Estructuralmente se caracterizan por la ausencia de un radical 6-fluoro, con excepción de flumequina, y

por no exhibir una asociación de 6-fluoro con el grupo piperazina en posición C7 (presente en ácido pipemídico) (Mckellar y cols., 1996)

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

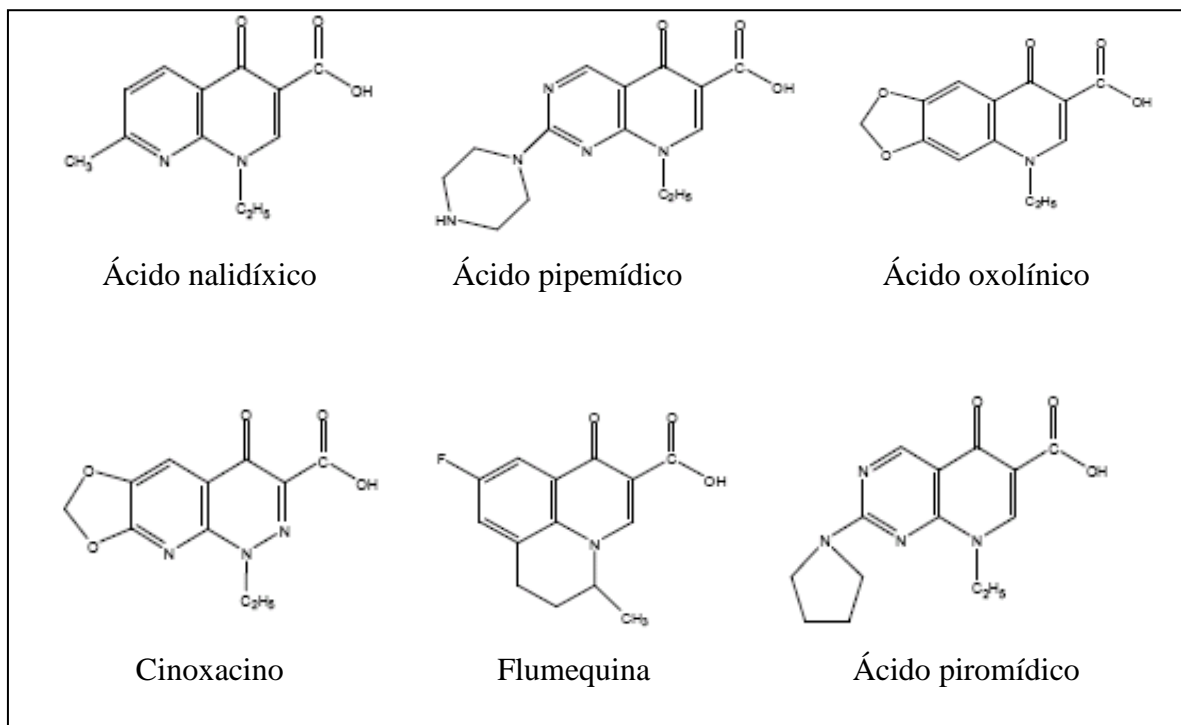


Figura 3.- Principales quinolonas de primera generación.

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

Clínicamente presentan mayor potencia, amplio espectro antimicrobiano, buenas propiedades farmacocinéticas, menos toxicidad, menos efectos secundarios y menores resistencias bacterianas. Presentan actividad frente *Pseudomonas aeruginosa*, algunas bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* y

determinadas especies de micobacterias, clamidias y riquetsias. Su actividad frente a *Acinetobacter* y *Stenotrophomonas maltophilia* es moderada y escasa frente a *Streptococcus pneumoniae* y otras especies de *Streptococcus* (King y cols., 2000, Gootz y Brighty, 1998; Furet y Pechere, 1991). Sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SAMR) rápidamente se estableció resistencia (Schaeffler, 1989).

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

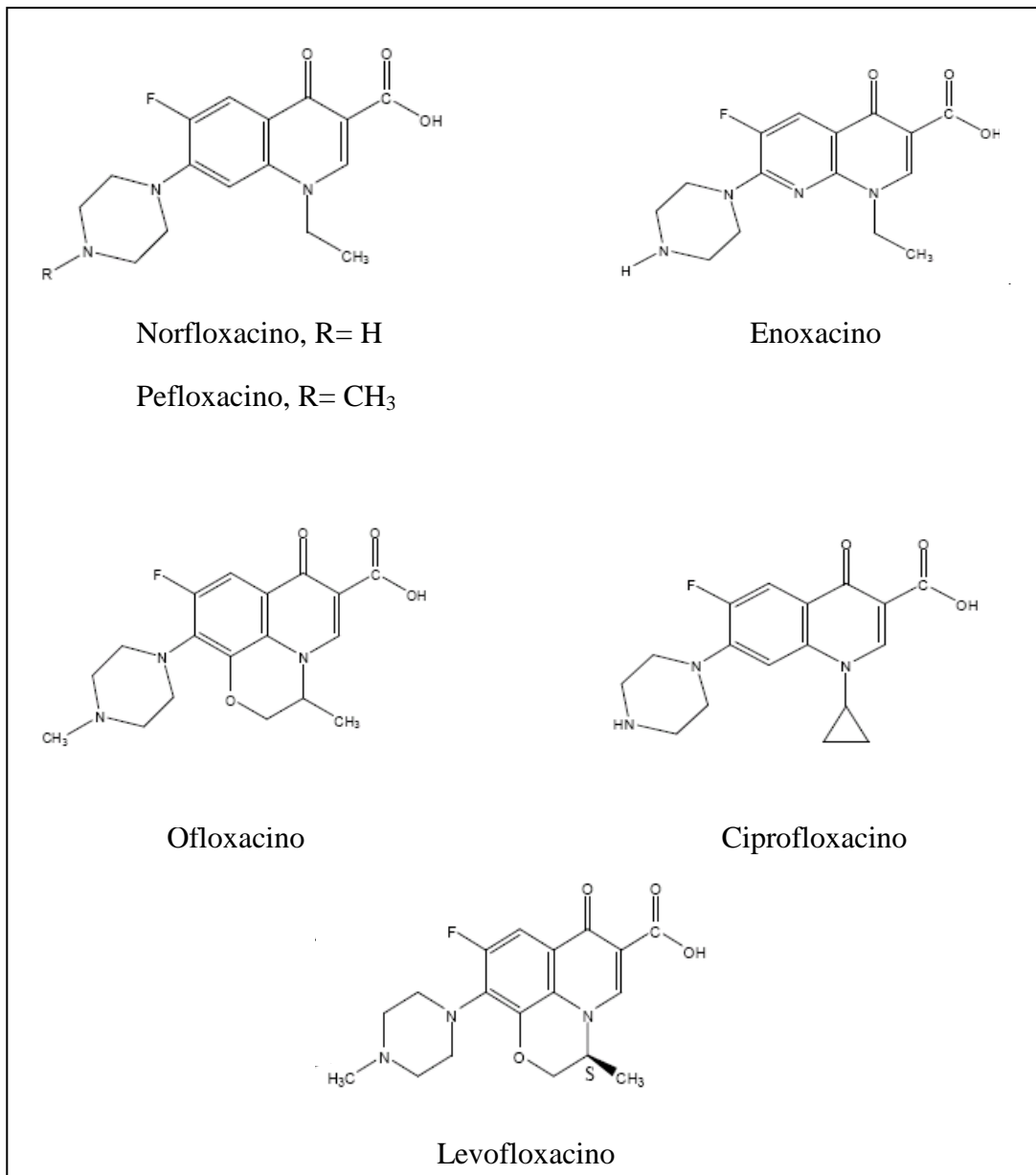


Figura 4.- Principales quinolonas de segunda generación.

- **Tercera generación** (Figura 5): químicamente caracterizadas por la presencia de grupos cíclicos aminados en C7, siendo frecuentes la presencia de aminopirrolidinas y grupos 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).

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

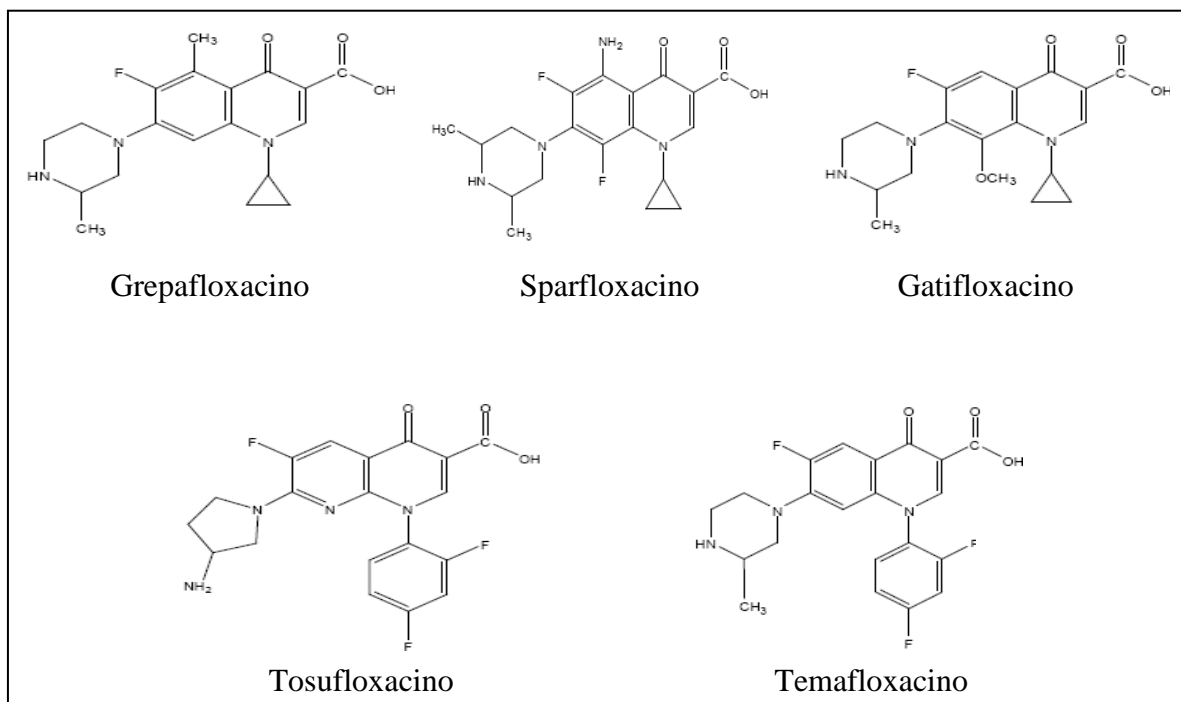


Figura 5.- Principales quinolonas de tercera generación.

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

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

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

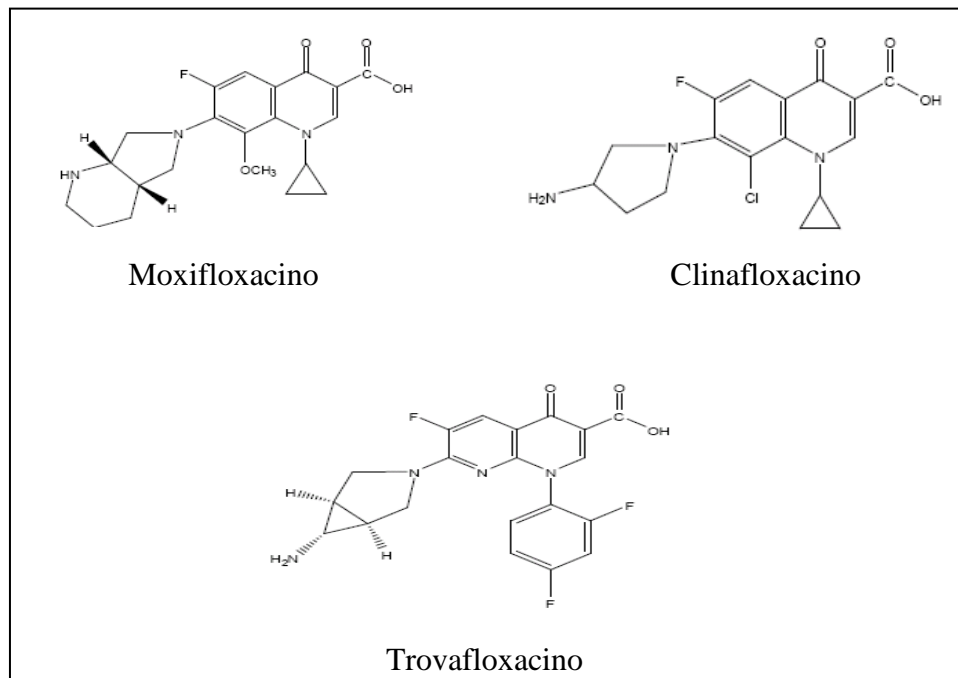


Figura 6.- Principales quinolonas de cuarta generación.

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

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

2.3.- RELACIÓN ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD.

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

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

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

▪ Sustituciones en posiciones 1.

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

En esta posición encontramos básicamente tres radicales distintos:

- Grupo etilo: ácido nalidíxico, pipemídico, norfloxacino, pefloxacino, enoxacino y lomefloxacino. En el caso de fleroxacino, este grupo etilo está fluorado (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).
- Posteriormente, se añadieron grupos más voluminosos que mejoraron la actividad frente a patógenos tanto Gram negativos como Gram positivos. Se añadió entonces un grupo ciclopropilo, mejorando la actividad frente a Gram negativo (Appelbaum y cols., 2005). Este radical lo presentan: ciprofloxacino, sparfloxacino, grepafloxacino, clinafloxacino, moxifloxacino, gatifloxacino y gemifloxacino. Sitafloxacino, además, tiene un flúor unido al ciclopropilo. Este radical está considerado como el que ofrece mayor actividad a la molécula (Peterson, 2001).

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

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

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

▪ **Sustituciones en posiciones 2.**

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

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

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

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

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

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

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

- **Sustituciones en posiciones 5.**

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

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

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

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

- **Sustituciones en posiciones 6.**

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

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

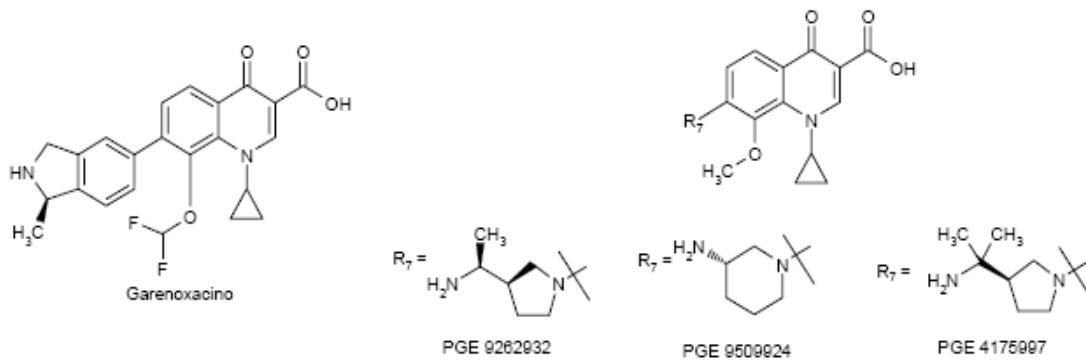


Figura 7.- 6-Desfluoroquinolonas o quinolonas no fluoradas.

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

▪ Sustituciones en posiciones 7.

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

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

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

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

▪ Sustituciones en posiciones 8.

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

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

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

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

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

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

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

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

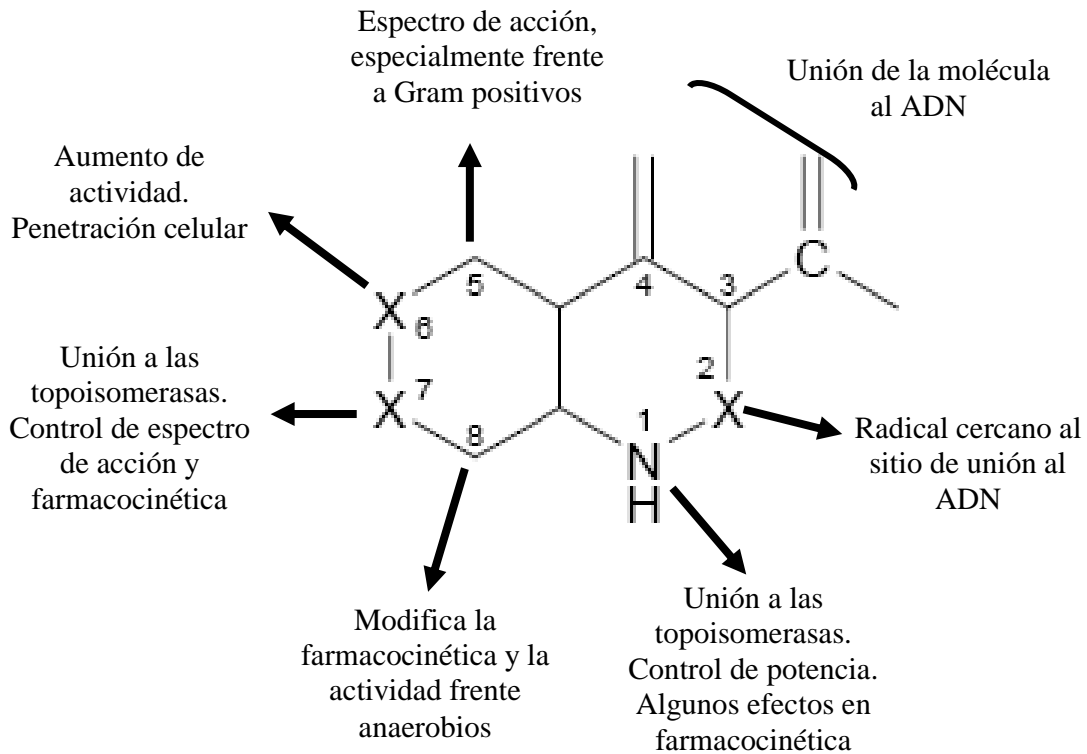


Figura 8.- Relación estructura y actividad de la molécula de quinolona.

2.4.- PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS.

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

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

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

QUINOLONAS	pKa1	pKa2
Ciprofloxacino	6,0	8,8
Danofloxacino	6,07	8,56
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
Marbofloxacino	5,69	8,02
Norfloxacino	6,4	8,7
Ofloxacino	6,1	8,2
Pefloxacino	6,3	7,6
Sarafloxacino	5,62	8,18
Sparfloxacino	6,2	8,6
Temafloxacino	5,6	8,8

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

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

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

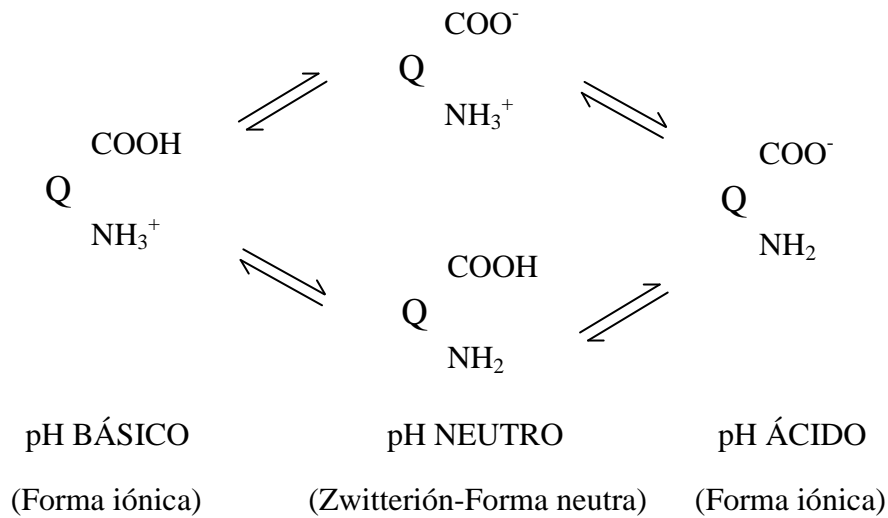


Figura 9.- Formas de quinolona en función del pH extracelular.

Así, a pH por debajo de pKa₁ las quinolonas presentan carga positiva, mientras que a pH por encima de pKa₂ tienen carga negativa. Valores bajos de pKa determinan el rango de pH dentro del cual estos antibióticos son solubles en fluidos acuosos, siendo este dato importante para la disolución de suspensiones y tabletas (Martínez y cols., 2006).

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

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

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

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

Quinolona	Polimorfonucleares
Ácido pipemídico	2,4
Norfloxacin	2,2-5,7
Ciprofloxacino	4-7
Ofloxacin	6,2-8,1
Levofloxacin	6,7-9,8
Moxifloxacin	6,3
Gatifloxacin	5

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

2.5.- MECANISMO DE ACCIÓN.

En el año 1977 se demostró, en la bacteria *Escherichia coli*, la acción inhibitoria específica de la DNA-girasa del ácido nalidíxico, siendo esta su diana primaria y funcional. Posteriormente se descubrieron más especies bacterianas que poseían como diana la DNA-girasa (Yoshida y cols., 1993). Además, inhiben las actividades de la topoisomerasa IV (Wolfson y Hooper, 1989). Así, DNA-girasa y topoisomerasa IV son las dianas de las quinolonas (Drlica y Zhao, 1997).

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

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

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

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

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

El tipo de mecanismo de acción puede depender del microorganismo en cuestión. El ciprofloxacino, por ejemplo, muestra los mecanismos A y B contra *Escherichia coli*, pero solamente el A frente a *Staphylococcus aureus* (Brighty y Gootz, 1997).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

El complejo entre la enzima y el ADN consiste en aproximadamente 130 pares de bases localizadas en el núcleo de la proteína. La unión se realiza mediante enlaces covalentes entre la tirosina (Tyr 122) de la subunidad A con 4 bases libres que se generan después de crear una rotura en el ADN. Posteriormente, y mediante la hidrólisis de ATP (subunidad B), la ADN-girasa introduce un enrollamiento negativo en el ADN,

relajando la estructura producida por la horquilla de replicación y volviendo a unir las dos cadenas de ADN (Heddle y cols., 2000; Schmitz y cols., 2002; Maxwell, 1997).

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

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

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

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

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

girasa es menos sensible a las quinolonas que el crecimiento bacteriano (Guthrie y cols., 2004; Maxwell y Critchlow, 1998).

2.6.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO.

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

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

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

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

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

La eficacia de las fluorquinolonas puede verse afectada por el pH del medio. Se ha comprobado menor actividad contra bacterias Gram negativas en medio ácido que en medio básico. Las bacterias Gram positivas parecen no verse afectadas por el pH

(McKellar, 1996; Brown, 1996). Wetzstein demostró que en pH ligeramente ácido (tejidos inflamados, abscesos o fagocitos) se reduce la tasa de muerte de algunas bacterias en presencia de enrofloxacino. En contraste, a pH 8 la actividad bactericida del enrofloxacino no varía (Wetzstein y De Jong, 1996).

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

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

2.6.1.- ACTIVIDAD FRENTE A COCOS GRAM POSITIVOS.

La actividad de las primeras 4-quinolonas (como el ácido nalidíxico y el cinoxacino) frente a *Streptococcus pneumoniae* era nula y solo tenían poca actividad las primeras fluorquinolonas (enoxacino, fleroxacino, norfloxacino, lomefloxacino, rufloxacino etc.) (Felmingham y cols., 1985; Ridgway y cols., 1985). La actividad fue mejorando con posteriores fluorquinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino, sparfloxacino, trovafloxacino, moxifloxacino, gemifloxacino etc.) (Bauernfeind, 1997; Felmingham y cols., 1999; Hoellman y cols., 1999; Visalli y cols., 1997). En la tabla 3 se especifican las CMI₅₀ y CMI₉₀ de diferentes 4-quinolonas y fluorquinolonas frente a *Streptococcus pneumoniae*.

Cinafloxacino, gemfloxacino y sitafloxacino tienen una gran actividad, con valores de CMI₉₀ bajos de 0,016-0,125 mg/L.

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

Frente a *Streptococcus pyogenes*, las nuevas fluorquinolonas han demostrado valores de CMI₉₀ similares a los observados contra neumococos, sobre todo gemifloxacino y sitafloxacino (Nakane y cols., 1995; Cormican y Jong, 1997).

La actividad de las primeras fluorquinolonas, como ciprofloxacino y ofloxacino, es sólo modesta frente a *Staphylococcus aureus* sensibles a meticilina y *Staphylococcus epidermidis*, con CMI₉₀ valores de 0,5-1 mg/L, mejorando con grepafloxacino y sparfloxacino con valores de 0,12-0,25 mg/L. Posteriores estudios con clinafloxacino, gatifloxacino, gemifloxacino, moxifloxacino, sitafloxacino y trovafloxacino indican mayor actividad, con valores de de 0,03-0,06 mg/L (Ednie y cols., 1997; Bauernfeind, 1997; Nakane y cols., 1995; Cormican y Jones, 1997; Woodcock y cols., 1997).

Tabla 3.- CMI₅₀ y CMI₉₀ de diferentes 4-quinolonas y fluorquinolonas frente a *Streptococcus pneumoniae*.

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

2.6.2.- ACTIVIDAD FRENTE A GRAM NEGATIVOS.

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

Frente a especies de *Kebsiella* y *Enterobacter* resistentes a ciprofloxacino, sitafloxacino y clinafloxacino, han demostrado una gran actividad en comparación con otras nuevas fluorquinolonas (Deguchi y cols., 1997; Brisse y cols., 1999). Frente a *E.coli*, danofloxacino, enrofloxacino, norfloxacino y ofloxacino presentaron una actividad sólo ligeramente diferente, por lo deberá considerarse la relación PK/PD en la elección del tratamiento (Ozawa y cols., 2010). Por otro lado, se ha visto que para el tratamiento de la salmonelosis, danofloxacino es un agente activo, superior a otros antibióticos, con $CMI_{90} \leq 0.125 \mu\text{g/ml}$. (a excepción de *S. argona* que presenta una CMI_{90} de $0.25\mu\text{gr/ml}$) (Geornaras y von Holy, 2001).

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

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

2.6.3.- ACTIVIDAD FRENTE A GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES.

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

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

Acinetobacter spp. tiene una respuesta, en general, bimodal frente a las quinolonas. La actividad de las nuevas quinolonas frente a especies sensibles a ciprofloxacino ha sido estudiada y se ha comprobado que son más activas que ciprofloxacino (Ednie y cols., 1997; Nakane y cols., 1995; Cormican y Jones, 1997), pero frente a cepas resistentes a quinolonas todos los compuestos tienen menor actividad. Clinafloxacino y sitafloxacino conservan una mayor actividad, aunque sus valores de CMI₉₀ son elevadas (1-4 mg/L) (Ednie y cols., 1997).

2.6.4.- ACTIVIDAD FRENTE A ANAEROBIOS.

La actividad de las primeras fluorquinolonas (ciprofloxacino, ofloxacino, levofloxacino, pefloxacino y enoxacino) frente a anaerobios como: grupo de

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

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

Gharaibeh y cols., estudiaron la susceptibilidad frente a 67 cepas de *Clostridium perfringens*, y obtuvieron resultados más favorecedores en penicilinas (0.5-1 µg/ml), tetraciclinas (0.5-8 µg/ml) y quinolones (4-8 µg/ml), de las cuales danofloxacino fue uno de los fármacos con menor CMI₉₀ (Gharaibeh y cols., 2010).

2.6.5.- ACTIVIDAD FRENTE A PATÓGENOS ATÍPICOS.

Mycoplasma, *Chlamydia* y *Legionella pneumophila*, son patógenos reconocidos como causantes de enfermedades del aparato respiratorio. Las primeras 4-quinolonas tenían una insignificante o en el mejor de los casos modesta actividad frente a éstos patógenos (Heessen y Muytjens, 1984; Ridgway y cols., 1984) y moderada frente a *Legionella pneumophila* (Deforges y cols., 1986), mejorando su actividad las primeras 6-fluorquinolonas como ciprofloxacino, ofloxacino y levofloxacino (Felmingham y cols., 1985). Los nuevos agentes tienen una gran actividad pudiendo compararse con macrólidos y con doxiciclina, como ocurre con trovafloxacino, gatifloxacino, moxifloxacino y gemifloxacino. Tiamulina, danofloxacino y enrofloxacino presentan una elevada susceptibilidad contra patógenos de *Mycoplasmas* frecuentes en aves (Hannan y cols., 1997).

La tabla 4 muestra un resumen de los resultados de estos compuestos en comparación con macrólidos y doxiciclina frente *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Legionella pneumophila* y *Mycoplasma pneumoniae* (Roblin y cols., 1997; Jones y cols., 1997; Dubois y St-pierre, 1999; Wise y cols., 1997; Woodcock y cols., 1997; Felmingham y cols., 1985)

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

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

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

2.7.- EFECTO POSTANTIBIÓTICO DE QUINOLONAS.

Bigger en 1944 fue el primero en observar este efecto en *Staphylococcus* y *Streptococcus* previamente expuestos a penicilina G, y pocos años después se comprobó con el mismo antibiótico y *Staphylococcus* (Parker y Marsh, 1946). Otros autores

fueron capaces de demostrarlo con penicilina y otros cocos Gram positivos tanto “*in vitro*” como “*in vivo*” (Eagle y Musselman, 1949).

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

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

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

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

- Tipo de antimicrobiano y microorganismo: Es el factor que más influye en la duración del EPA tanto “*in vitro*” como “*in vivo*”. En general se puede decir que influye si la bacteria es Gram-positiva o Gram-negativa, la especie microbiana, si es anaerobia o no, su resistencia, etc. El antimicrobiano es importante puesto que cada uno posee diferente grado de acción sobre las distintas bacterias y por tanto diferente capacidad de “daño” celular (Craig y Gudmundsson, 1991; Vogelman y Craig, 1985; Vogelman y cols., 1988).
- Concentración de antimicrobiano: Para que se produzca EPA es necesario una concentración adecuada del antimicrobiano. En muchos antibióticos el EPA parece ser proporcional a la concentración (aminoglicósidos, quinolonas) aunque hay otros parámetros que también influyen (concentración máxima en suero, dosis total, etc...) (Chin y Neu, 1987; Dalhoff y Ullmann, 1990; Vogelman y Craig, 1985; Vogelman y cols., 1988).

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

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

Durante el período postantibiótico se pueden observar los siguientes efectos:

- Cambios morfológicos: la observación de las bacterias por microscopía electrónica, durante el tiempo que dura la fase EPA, ha puesto de manifiesto que las células están alteradas morfológicamente, adoptando formas globosas o filamentosas, después de la exposición al antimicrobiano. Ciprofloxacino produce una hinchazón de las bacterias con formación de vacuolas en el citoplasma en la mayoría de *Staphylococcus aureus* durante la fase EPA (Pastor y Cantón, 1999).

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

El EPA puede ser consecuencia de:

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

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

Las quinolonas producen un efecto postantibiótico de duración variable, tanto sobre bacterias Gram positivas, como sobre bacterias Gram negativas. Sobre las bacterias Gram positivas los EPA inducidos suelen ser, por lo general, intermedios en duración (90 y 180 minutos). Las quinolonas producen efectos postantibióticos inferiores a 3 horas sobre *Staphylococcus aureus*, con la excepción de sparfloxacino y ofloxacino, que son las quinolonas que inducen los EPA más largos, de 2 a 5 horas de duración. Pefloxacino genera un EPA menor de 90 minutos y norfloxacino induce un efecto postantibiótico aún más corto (<60 minutos). Sobre las bacterias Gram negativas, las quinolonas inducen efectos postantibióticos intermedios (de 1,5 a 3 horas), a excepción de ciprofloxacino frente a *Enterobacter aerogenes* y lomefloxacino frente a *Escherichia coli*, para los que se ha observado un efecto postantibiótico siempre menor de 1,5 horas (Gobernado y Santos, 2002).

La aplicación más importante del EPA está en los protocolos de dosificación de los antimicrobianos. Así, determinadas combinaciones de microorganismo-anti-microbiano que induzcan un EPA prolongado podrán administrarse de forma

intermitente sin miedo a perder eficacia. Las ventajas de este tipo de dosificación se traducirían en una dosificación más cómoda, reducción de los riesgos de toxicidad y disminución de los costes sanitarios (material desechable, personal especializado para pinchar, etc) (Esposito y cols., 1988; Tulkens, 1991).

2.8.- RESISTENCIAS BACTERIANAS.

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

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

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

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

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

Se han detectado resistencias bacterianas a 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).

Enterococcus faecalis, es un microorganismo que causan artropatías en pollos y presenta resistencias crecientes a las fluoroquinolonas, entre ellas enrofloxacinó y danofloxacinó con porcentajes del 43.78 y 47.76%, respectivamente. (Ciftci y cols. 2009).

Las resistencias bacterianas pueden agruparse en distintas categorías:

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

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

2.8.1.- ALTERACIONES EN LAS DIANAS.

Estas resistencias son de tipo cromosómico que dan lugar a mutaciones de los cromosomas en segmentos definidos de los genes que se traducen en alteraciones en la girasa y la topoisomerasa IV, dando lugar a las QRDR (región determinante en la aparición de resistencias bacterianas a las quinolonas) (Wolfson y Hooper, 1989; Nakamura, 1997).

Los primeros estudios realizados en *Escherichia coli* sostienen que la principal causa de resistencia a quinolonas es debida a mutaciones en la subunidad GyrA y en menor grado en la subunidad GyrB de la DNA-girasa (Yoshida y cols., 1990; Cullen y

cols., 1989). Las mutaciones en las regiones equivalentes de las proteínas ParC y ParE de la topoisomerasa IV tienen lugar posteriormente (Heisig, 1996). Concretamente es en el residuo de serina 83 (Ser83) y aspartato 87 de la subunidad gyrA y en la serina 79 y aspartato 83 de parC de *Escherichia coli* donde se producen resistencia a diversas quinolonas y en sus sitios análogos en otras especies (Bebear y cols., 2003; Drlica y Zhao, 1997; Piddock y Johnson, 2002).

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

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

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

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

2.8.2.- ALTERACIONES EN LA PERMEABILIDAD BACTERIANA.

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

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

Se han descrito numerosos mutantes de permeabilidad que modifican la sensibilidad a quinolonas hidrofílicas, aunque la resistencia de dichos mutantes no es muy elevada. Se reporta que mutaciones en los genes *ompF* y *ompC* dan lugar a una escasa o nula resistencia y éstas se caracterizan por presentar variaciones en las concentraciones de las porinas OmpF y OmpC. Paralelamente, mutaciones en los genes *nfxB*, *norB*, *norC*, *nfxC* y *cfxB* parecen estar asociados a una menor permeabilidad a través de los canales OmpF, así como a una menor permeabilidad a otras moléculas como tetraciclina, cloranfenicol o algunos lactámicos (Wolfson y Hooper, 1989). Por otro lado, mutaciones en los loci *nfx*, *mar*, *cfx* y *sox*, involucrados en la respuesta frente a condiciones medio ambientales adversas, dan lugar a resistencia frente a muchas moléculas diferentes, incluidas las quinolonas.

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

Por otro lado, las cepas mutantes Mar (múltiple antibiotic resistant) expresan resistencias condicionadas por cromosomas frente a una gran variedad de antibióticos hidrofóbicos e hidrofílicos estructuralmente no relacionados, entre ellos las quinolonas. Esto es consecuencia de que las mutaciones en *marA* reducen la permeabilidad al disminuir la expresión de la OmpF. Las mutaciones que afectan a la permeabilidad confieren bajos grados de resistencia a las quinolonas (aumento de 2 a 4 diluciones log₂ de la CMI), pero habitualmente se producen resistencias cruzadas con otros antibióticos estructuralmente no relacionados (Cohen y cols., 1988; Cohen y cols., 1989).

2.8.3.- RESISTENCIA POR LOS SISTEMAS DE EFLUJO.

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

Uno de los más conocidos es el sistema de transporte denominado AcrAB de *Escherichia coli*, el cual está codificado en los genes *acrAB* y parece tener como función fisiológica la protección de las células frente a sales biliares y ácidos grasos que son tóxicos habituales de su entorno fisiológico. Este sistema se sitúa en la membrana interna de los microorganismos y es un proceso inespecífico y dependiente de energía, ligado a un gradiente de protones. El sistema AcrAB está compuesto por el transportador AcrB y la proteína periplasmática accesoria AcrA. Se cree que AcrA, de forma alargada, aproxima la membrana externa e interna, formando un trímero que interacciona con el monómero AcrB; bombeando así una gran variedad de sustancias,

incluida las quinolonas, presumiblemente a través del canal TolC (Nikaido, 1996; Nikaido y Zgurskaya, 2001).

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

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

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

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

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

2.8.4.- OTROS MECANISMOS DE RESISTENCIA.

❖ RESISTENCIA MEDIADA POR PLÁSMIDOS:

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

Este mecanismo de resistencia aumenta la resistencia de las cepas de 4 a 8 veces y complementa a otros mecanismos de resistencia como la adquisición de mutaciones o a los sistemas de expulsión activa. El mecanismo de acción de Qnr se basa en la unión de esta proteína a la ADN-girasa; esta unión no requiere la presencia del complejo ADN-girasa-Quinolona-ADN para su formación. Se postula que la formación del complejo Qnr-ADN-girasa ocurre antes del bloqueo de la ADN-girasa por parte de la quinolona. Además, se ha observado una reducción en la formación del complejo en presencia de Qnr (Rodríguez-Martínez, 2005; Tran y cols., 2005).

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

2.9.- INTEGRACIÓN FARMACOCINÉTICA-FARMACODINÁMICA.

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

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

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

número de microorganismos, que facilita la acción de las defensas orgánicas cuando las concentraciones sistémicas del antibiótico son mínimas. Altas concentraciones de antibiótico, en relación a la CMI de los microorganismos, también contribuyen a incrementar el efecto post-antibiótico (EPA). El EPA *in vivo*, es mayor que *in vitro* para la mayoría de los microorganismos, a excepción de los estreptococos β -hemolíticos. Por consiguiente, la adecuación de la ratio C_{\max}/CMI_{90} será fundamental para retrasar el recrecimiento de patógenos, por varias horas. El resultado de usar este tipo de regímenes de dosificación es que existirá una menor cantidad de microorganismos capaces de producir subpoblaciones resistentes.

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

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

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

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

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

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

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

La actividad bactericida de un antibiótico puede alterarse por modificaciones en la relación pH intracelular/pKa del fármaco, contenido en oxígeno, y actividad enzimática intracelular (Butts, 1994). Además, la potencia de un antibiótico es frecuentemente considerada en términos de CMI, que es un efecto estático sobre el crecimiento bacteriano. La CMI de un antibiótico puede no ser igual que su concentración bactericida mínima (CBM ó MBC). Desde el momento que los valores de CMI y CBM de un antibiótico son estimados *in vitro*, estos no reflejan la capacidad antimicrobiana *in vivo* por numerosos factores (Craig y Dalhoff, 1998). Mientras que se ha demostrado que algunas fluoroquinolonas tienen actividad *in vitro* e *in vivo* contra bacterias en fase estacionaria (por ejemplo, ofloxacino y ciprofloxacino), otras no (por

ejemplo, norfloxacin) (Lode y cols., 1998). También tenemos que tener en cuenta que una vez que hemos alcanzado un determinado valor de la ratio AUC/CMI o C_{max}/CMI para un determinado antibiótico, el incremento de estas ratios no aumenta su eficacia clínica, ya que elevadas concentraciones de fluoroquinolonas inhiben la síntesis de ARN y la síntesis proteica, provocando una disminución en su actividad bactericida (Lode y cols., 1998).

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

2.10.- UTILIZACIÓN CLÍNICA DE LAS FLUORQUINOLONAS.

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

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

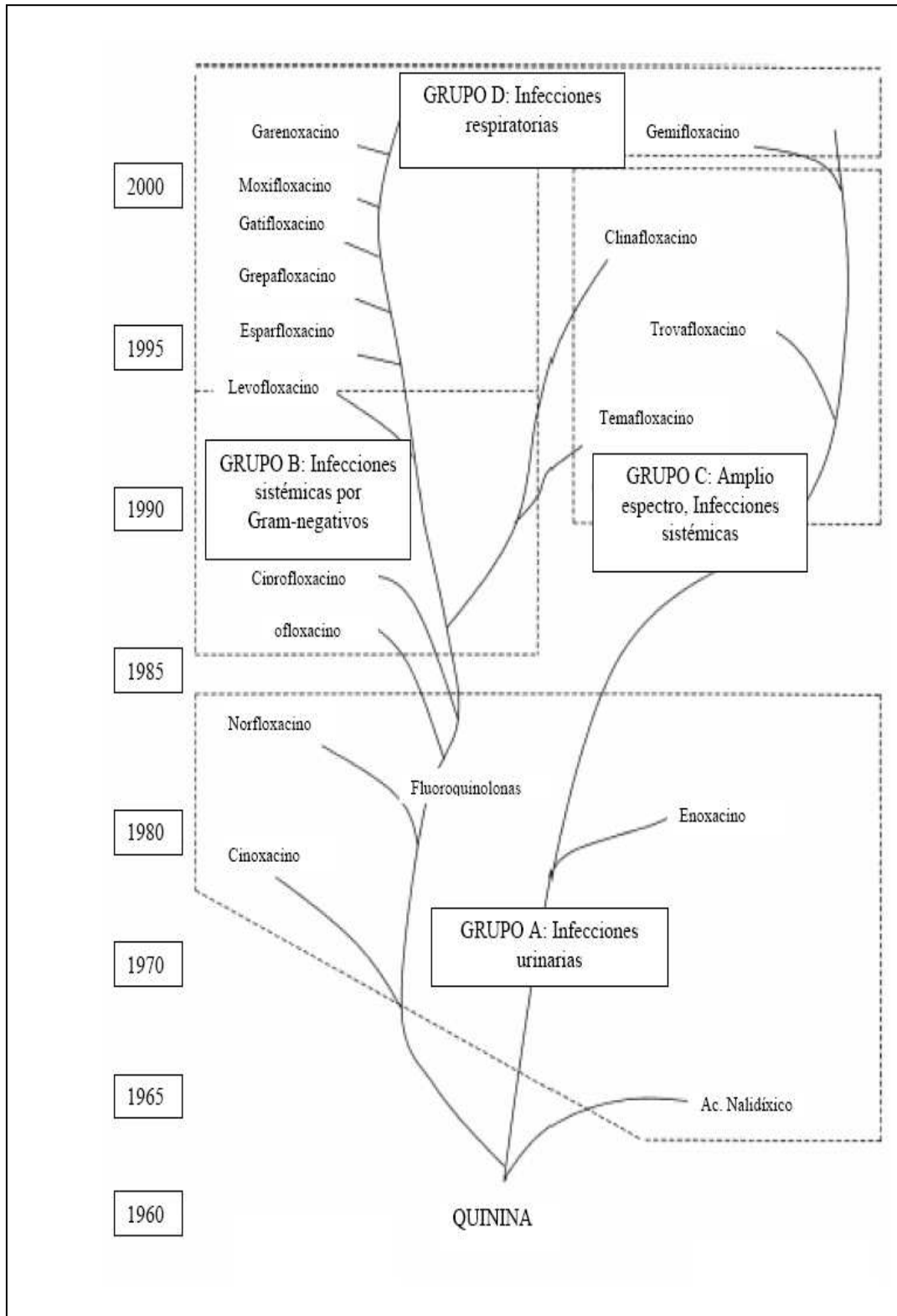


Figura 10.- Relación entre el año de introducción de las quinolonas y su uso en clínica.

Otras indicaciones de las quinolonas son las infecciones gastrointestinales, y abdominales. Éstas presentan una muy buena actividad sobre los principales patógenos, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*, o *Campylobacter* spp. Por este motivo algunos autores proponen el uso de estos antimicrobianos como profilaxis para viajeros

a países en vías de desarrollo, con el fin de evitar la aparición de la llamada “diarrea del viajero” (Tellier y Keystone, 1992).

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

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

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

Las quinolonas utilizadas en medicina veterinaria son (Tabla 6):

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

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

A. VACUNO, OVINO Y CAPRINO:

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

B. CERDO:

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

C. CABALLO:

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

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

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

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

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

E. AVES DE CORRAL:

En las explotaciones de aves de corral, se necesitan agentes antimicrobianos con capacidad bactericida rápida frente a los patógenos que se aíslan frecuentemente, entre los que destacan *Escherichia coli*, que causa graves septicemias y celulitis, *Salmonella* spp., *Haemophilus paragallinarum* y *Pasteurella multocida*. Sarafloxacino y enrofloxacino han sido desarrollados para el uso en aves de corral y las indicaciones aprobadas en Estados Unidos comprenden el tratamiento de las infecciones causadas por *Escherichia coli* en pollos y pavos. Enrofloxacino, además, también ha sido aprobado en el tratamiento de las infecciones causadas por *Pasteurella multocida* en pavos (Walker, 2000; USP Drug information, 2003). Danofloxacino no está autorizado para su uso en aves, pero se ha comprobado in vitro la susceptibilidad frente a cepas descritas anteriormente. (Raemdonck y cols., 1992; Geornaras e Ivon Holy, 2001)

F. CONEJO:

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

Listeria monocytogenes o *Pasteurella multocida* y que cursan con somnolencia, anorexia, pirexia y septicemia (Burgmann, 2000).

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

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

G. OTROS:

A pesar de que no se ha establecido la seguridad y eficacia de danofloxacino en a otros animales y dada la gran susceptibilidad in vitro para el tratamiento de infecciones por multitud de patógenos, se han realizado gran variedad de estudios de farmacocinética y CMI, con resultados prometedores en las siguientes especies: corderos (Godinho y cols. 2007), cabras (Ozdemir y cols., 2006), aves (Raemdonck y cols.,1992), conejos (Rouger y cols. 2006), perros (Çetin y cols.,2003), camellos (Aliabadi y cols., 2003a), caballos (Fernández-Varón y cols., 2006a), tortugas (Marín y cols., 2008), burros (Kum y cols., 2009) y cocodrilos (Turutoglu y cols., 2005).

2.11.- TOXICIDAD Y EFECTOS ADVERSOS.

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

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

Las fluorquinolonas son comparables con otras clases de antibióticos en términos de frecuencia y gravedad de los efectos adversos. En estudios clínicos comparativos, la frecuencia global de efectos adversos para diferentes fluorquinolonas es entre 3-40%. En otros antibióticos: 6-35% en penicilinas, 39% en eritromicina, 12-39% en cefalosporinas etc. (Wolfson y Hooper, 1991; Norrby, 1991).

2.11.1.- RELACIÓN ENTRE ESTRUCTURA Y EFECTOS ADVERSOS.

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

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

- **Sustituciones en posición 1.**

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

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

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

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

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

▪ **Sustituciones en posición 5.**

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

▪ **Sustituciones en posición 7.**

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

La presencia de moléculas de menor tamaño en C7, tales como piperacinas (ciprofloxacino, norfloxacino) y pirrolidinas (tosufloxacino, clinafloxacino) son las que más antagonizan con el GABA. De forma contraria, las quinolonas con radicales más voluminosos (piperacinas o pirroles sustituidos) tienen menor antagonismo con el GABA. Este efecto antagónico también depende de la penetración en el tejido nervioso y probablemente esté ligado al grado de lipofilia o lipofobia de los distintos radicales. (Gutiérrez- Zufiaurre, 2004)

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

- Genotoxicidad: el anillo pirrolidinil es más citotóxico que el piperacínil, y éstos más que los anillos con alguna sustitución en su estructura (Gutiérrez-Zufiaurre, 2004).

- Alteraciones dermatológicas: la presencia de un grupo alquilo en el anillo piperacínico en el C7 está relacionado con eritema, urticaria, prurito, erupción (Norrby, 1991).

- **Sustituciones en posición 8.**

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

- El radical más genotóxico es C-F, seguido en orden por: C-Cl, C-OCH₃, N, C-CF₃ y C-H.
- La fototoxicidad se ha demostrado en las quinolonas que tienen un grupo halogenado en C8, como el flúor (lomefloxacino, sparfloxacino y fleroxacino). Esta fototoxicidad disminuye con otros radicales como el grupo metoxi.

En orden decreciente de toxicidad en función del radical en esta posición: C-F ≥ C-Cl > N > CH > 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).

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

- **Efectos gastrointestinales.**

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

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

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

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

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

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

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

- **Efectos dermatológicos.**

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

Las manifestaciones clínica fototóxicas van desde un leve eritema en las áreas expuestas al sol hasta erupciones graves, y pueden ser causadas tanto por la exposición

directa e indirecta a la luz del sol, como por la exposición a lámparas UV (Lipsky y Baker, 1999; Domagala, 1994). Las reacciones generalmente disminuyen tras suspender la terapia, pero pueden aparecer hasta 3 semanas después de la suspensión del antibiótico. Esto puede ocurrir con aquellas fluorquinolonas que tienen alta penetración en tejidos o una larga semivida de eliminación (Domagala, 1994).

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

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

- **Efectos hepáticos.**

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

- **Efectos sobre el tracto urinario.**

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

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

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

- **Efectos oculares.**

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

- **Efectos musculoesqueléticos.**

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

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

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

El riesgo de ruptura del tendón de Aquiles fue 4 veces superior entre las personas que recibieron una fluorquinolona y las que no la recibieron. Generalmente, aparece en mayores de 50 años y en tratamiento concomitante con corticoesteroides (Pierfitte y cols., 1995; Szarfman y cols., 1995). Los síntomas pueden ocurrir dentro de

2-42 días después de iniciar el tratamiento y suelen resolver dentro de 1-2 meses después de la suspensión del antibiótico (Fish, 2001).

- **Efectos cardiovasculares.**

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

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

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

- **Efectos hematológicos.**

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

- **Efectos inmunológicos.**

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

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

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

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

- **Efectos carcinógenos y teratógenos.**

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

En cuanto a los efectos teratogénicos, ha sido descrito pérdida de peso fetal y un aumento de la mortalidad fetal con levofloxacino en ratones, pero no en conejos, al administrar dosis muy elevadas (80 veces la dosis humana máxima). Gatifloxacino produjo malformaciones en el esqueleto y un aumento en la mortalidad neonatal y perinatal cuando se administró en ratas a dosis equivalentes o superiores a la dosis máxima en humanos. Moxifloxacino, a dosis iguales o superiores a la dosis máxima

permitida en el hombre, produjo en conejos una pérdida de peso fetal y un retraso en la calcificación esquelética. También se ha registrado una disminución de peso al nacer en monos, a dosis de moxifloxacino 2,5 veces superiores a la máxima dosis recomendada en el hombre (Fish, 2001).

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

2.12.- INTERACCIONES.

2.12.1.- INTERACCIONES CON MEDICAMENTOS.

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

❖ INTERACCIONES RELACIONADAS CON LA ESTRUCTURA:

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

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

presentan una cadena alquilada en el anillo piperacínil y un anillo pirrodínil muestran una interacción mínima (Lomaestro y Bailie, 1991).

También la posición 7 va a influir en la interacción de las quinolonas con las xantinas. Los radicales pequeños y lineales incrementan esta interacción, mientras que los más voluminosos la disminuyen (Domagala, 1994).

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

❖ INTERACCIONES A NIVEL DE LA ABSORCIÓN:

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

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

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

Estudios realizados con la administración concomitante de fluorquinolonas con antagonistas de los receptores de histamina H₂ e inhibidores de la bomba de protones no han producido efectos clínicamente significativos sobre la absorción de estos antibióticos (Radandt y cols., 1992).

La absorción de ciprofloxacino se ve afectada negativamente, con una disminución del 26-29% en plasma de la $C_{m\acute{a}x}$ y del AUC, cuando se administra conjuntamente con didanosina, ya que su formulación está compuesta por carbonato de aluminio e hidroxido de magnesio como tampón. Igualmente, pueden interactuar otras fluorquinolonas, por lo que su administración concomitante debe evitarse (Knupp y Barbhaiya, 1997).

❖ INTERACCIONES A NIVEL DEL METABOLISMO:

Las fluorquinolonas pueden inhibir el aclaramiento de derivados de xantinas, incluyendo teofilina y cafeína. Esta interacción resulta del metabolismo de las fluoroquinolonas por la isoenzima 1A2 del sistema citocromo P450. Las fluoroquinolonas inhiben esta enzima previniendo el metabolismo/inactivación de las metilxantinas como cafeína y teofilina, provocando exceso de estas sustancias en sistema nervioso central y estimulación cardiaca.

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

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

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

Ciprofloxacino y norfloxacino disminuyen el aclaramiento de ciclosporina, aumentando sus concentraciones séricas (Davis y cols., 1996; McLellan y cols., 1995). Enrofloxacin podría aumentar las concentraciones plasmáticas de warfarina, fenacetina

y fenotiazina, y disminuir las de fenobarbital, debido a una interacción en su metabolismo. (Otero y cols., 2001b).

Existen informes que indican la posible existencia de interacciones entre las fluorquinolonas y determinados antibióticos contra micobacterias, concretamente rifampicina, pirazinamida y cicloserina. Rifampicina, es un inductor del CYP hepático, aumentando el metabolismo de 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).

❖ INTERACCIONES A NIVEL DE LA EXCRECIÓN:

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

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

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

❖ OTRAS INTERACCIONES:

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

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

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

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

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).

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

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

2.12.2.- INTERACCIONES CON ALIMENTOS.

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

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

2.13.- PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS.

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

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

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

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

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

2.13.1.- ABSORCIÓN Y BIODISPONIBILIDAD.

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

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

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

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

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

2.13.2.- DISTRIBUCIÓN.

En la mayoría de las especies animales el volumen de distribución de las fluorquinolonas es grande, siendo mucho mayor que el alcanzado por los betalactámicos y aminoglucósidos. Se alcanzan altas concentraciones en saliva y secreción nasal, en mucosa, epitelio y secreción bronquial, así como en el hígado y en el tracto urinario (Brown, 1996; Vancutsem y cols., 1990). Penetran bien en el tejido pulmonar, fluido de revestimiento y macrófagos alveolares, existiendo concentraciones mayores a las séricas (Wise, 1991). Varias quinolonas llegan con rapidez a la glándula mamaria (Sumano y cols, 1993), entre ellas danofloxacino, alcanzando concentraciones 18 veces superior a

la del plasmaa tras 4 horas de la administración subcutánea en vacas. (Mestorino y cols., 2009)

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

La actividad *in vivo* de un agente antimicrobiano, debida a la capacidad del fármaco para pasar de la sangre a los tejidos, depende de la fracción libre de dicho fármaco. Por tanto, cuando usamos las características farmacocinéticas y farmacodinámicas para evaluar una dosis apropiada de una quinolona, es más interesante conocer la fracción libre de fármaco que la concentración total de este (Bergogne-Berezin, 2002; Drusano, 2002). A este respecto, es importante reseñar que las 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 (por ejemplo: AUC, $C_{m\acute{a}x}$) para concentración total de fármaco.

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

Las fluoroquinolonas poseen, en general, amplios volúmenes de distribución, mayores de 1,0 L/kg (Aminimanizani y cols., 2001; Lode y cols., 1998). Cuando consideramos estos valores es importante conocer que los volúmenes de los fluidos corporales compartimentalizados son alrededor de 0,05 L/kg para plasma, 0,2 L/kg para fluidos extracelulares y 0,7 L/kg para el agua corporal total (Wamberg y cols., 2002). Volúmenes superiores a 0,7 L/kg indican que el fármaco está unido preferentemente a

tejidos, pudiendo o no estar disponible para su función, y pudiendo haber sido secuestrado en el interior de las células. No obstante, cuando consideramos la concentración de antibiótico intersticial libre, se ha confirmado que esta concentración es comparable a la concentración del fármaco libre en plasma venoso (Araki y cols., 1997). Por tanto, excluyendo las situaciones asociadas a la captación iónica, desde que se establece el equilibrio entre la sangre y la concentración de fármaco libre en tejidos (Muller y cols., 1999), las concentraciones de fármaco libre en tejidos pueden preverse en base a la concentración de fármaco libre en plasma, incluso en casos en que la unión a proteínas no es lineal (Kovar y cols., 1997). Cabe destacar, además, la baja unión a proteínas plasmáticas de las fluorquinolonas, se han descrito porcentajes del 18-20% para marbofloxacino, 70% para ciprofloxacino, 36-45% para enrofloxacino y a partir de 13.55% para danofloxacino (Sappal y cols., 2009; Atef y cols., 2001).

2.13.3.- METABOLISMO Y EXCRECIÓN.

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

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

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

El metabolismo hepático que sufren las fluoroquinolonas varía en las distintas especies animales y para las distintas quinolonas, lo que se traduce en un amplio rango de semividas (Greene y Budsberg, 1993; Vancutsem y cols., 1990). El metabolismo hepático de estos antibióticos incluye reacciones de glucuroconjugación

(moxifloxacino, grepafloxacino, cinafloxacino y esparfloxacino), N-oxidación y desmetilación (levofloxacino), y se lleva a cabo principalmente por el sistema del citocromo P450 (Bergogne-Berezin, 2002). Otros mecanismos comunes son: desalquilación, sulfoxidación, acetilación y ruptura del anillo piperazínico (Vancutsem y cols., 1990; Brown, 1996).

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

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

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

El porcentaje de eliminación a través de la bilis varía entre las especies (Vancutsem y cols., 1990). La eliminación transepitelial a través de la pared gastrointestinal genera altas concentraciones en sitios de colonización de bacterias patógenas, e indudablemente contribuye a la alta eficacia de estos antimicrobianos en las enteritis bacterianas (McKellar, 1996).

2.13.4.- DIFERENCIAS INTERESPECÍFICAS.

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

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

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

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

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

En el mismo estudio, Cox y sus colaboradores examinaron también las relaciones alométricas para enrofloxacino. El gráfico resultante de la representación de log PC frente log Cl o log V_{ss} mostró una importante dispersión. Sin embargo, aunque exista un valor alto de r, puede no ser muy precisa la extrapolación a especies desconocidas con estas relaciones alométricas para Cl y V_{ss} . Particularmente, pueden ocurrir grandes errores de extrapolación cuando intentamos predecir parámetros farmacocinéticos en grandes especies como el caballo y en terneros. También hay numerosos casos en que ecuaciones con bajos valores de r predicen extrapolaciones de forma altamente precisa para especies animales desconocidas (Mahmood, 2001). Posteriormente Cox y cols., en 2007, realizaron el análisis alométrico sobre el Cl, V_{ss} y $t_{1/2}$ para marbofloxacino, moxifloxacino, danofloxacino y difloxacino.

Marbofloxacino presentó las siguientes ecuaciones para Cl y Vss:

$$Cl = 1.96 \text{ (mL/min)} \times PC^{1.1} \text{ (peso corporal)}$$

$$V_{ss} = 1.34 \text{ (L)} \times PC^{1.0} \text{ (peso corporal)}$$

En cuanto a la $t_{1/2}$ no se relacionó de forma significativa con la masa corporal ($p > 0.05$). Resultados similares se obtuvieron para danofloxacino y difloxacino. A continuación se presentan las ecuaciones correspondientes a Danofloxacino y Dinofloxacino:

$$Cl = 17.65 \text{ (mL/min)} \times PC^{0.84} \text{ y } Cl = 4.87 \text{ (mL/min)} \times PC^{0.94}$$

$$V_{ss} = 3.56 \text{ (L)} \times PC^{0.93} \text{ y } V_{ss} = 2.16 \text{ (L)} \times PC^{0.88}$$

Sin embargo para moxifloxacino, se encontró una relación entre el peso corporal y todos los parámetros evaluados, con las siguientes ecuaciones:

$$T_{1/2} = 2.4 \text{ (h)} \times PC^{0.36}$$

$$Cl = 18.77 \text{ (mL/min)} \times PC^{0.54}$$

$$V_{ss} = 3.25 \text{ (L)} \times PC^{0.91}$$

Para el Volumen de distribución se obtuvo una buena coorelación en los cuatro fármacos con un rango de $r^2 = [0.937 - 0.996]$ y una $p = 0.0001 - 0.0071$ al igual que para el aclatamiento con un $r^2 = [0.940 - 0.989]$ y una $p = 0.0001 - 0.0303$. La semivida de eliminación del marbofloxacino se coorelacionó con una $r^2 = 0.830$ y una $p = 0.0001$.

En la siguiente tabla (7) se muestran diferentes valores de semividas ($T_{1/2\lambda z}$) y biodisponibilidad (F), para diferentes fluoroquinolonas (Lees y AliAbadi, 2002b; Carretero y cols., 2002; Greene y Budsberg, 1993; Mann y Frame, 1992; McKellar y cols., 1998; Siefert y cols., 1999; Waxman y cols., 2001; Fernández-Varón y cols., 2006a; Fernández-Varón y cols., 2006c; Marín y cols., 2007a; Fernández-Varón y cols., 2007; Marín y cols., 2007b):

	ENROFLOXACINO		DANOFLOXACINO		MARBOFLOXACINO		DIFLOXACINO	
	F (VO) (%)	T _{1/2} (h)	F (IM) (%)	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	100	4,2	-	-
Cerdo	-	-	76	6,8	-	-	-	-
Oveja	-	-	95,7	3,35	-	-	99,9	13,9
Perro	91	4,9	-	-	-	8,6	-	-
Caballo	60	5,6	88,5	5,36	88	4,7	95,8	5,72
Cabra	-	-	-	-	100	7,2	106,7	10,4
Conejo	-	-	102,3	6,7	-	-	-	-

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

2.13.5.- PENETRACIÓN EN LECHE.

La mastitis es un problema muy importante en la producción lechera caprina, ovina y bovina, no solo por las pérdidas económicas que provoca a los productores, sino también por la seguridad e higiene de los alimentos producidos para consumo humano. Generalmente las fluoroquinolonas se distribuyen ampliamente en la ubre, aunque su disposición depende de la especie animal. En caprino, los regímenes de dosificación son normalmente extrapolados de parámetros farmacocinéticos de ovino y bovino, pudiendo dar lugar a dosis inapropiadas que conducen a niveles terapéuticos no efectivos, y por tanto, al riesgo de desarrollo de resistencias. Igualmente, si extrapolamos dosis demasiado elevadas, pueden aparecer efectos tóxicos.

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

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

En estudios realizados en vacas, cabras y ovejas, se demuestra que danofloxacino penetra muy rápidamente en la leche y de forma extensa, alcanzando concentraciones muy superiores a las obtenidas en plasma. (Shem-Tov y cols. 1998; Shem-Tov y cols., 1997; Mestorino y cols., 2009; Escudero y cols., 2007).

2.14.- DANOFLOXACINO.

2.14.1.- ESTRUCTURA QUÍMICA Y RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD.

Danofloxacin, ácido 7-[(1's,4's)-5'-methyl-2',5'-diazabicyclo[2.2.1]hept-2'y1]-1-cyclopropil-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic (Figura 11) es una fluorquinolona con un núcleo básico denominado dihidroquinolina o anillo 4-quinolónico (García y cols.,2000).

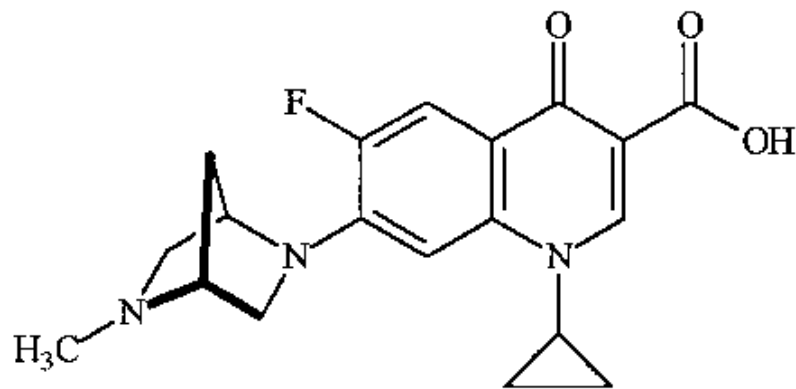


Figura 11.- Estructura química de danofloxacin.

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 grupo diazabicycloalquilo, en posición 7, le confiere mayor potencia al tratarse de un anillo voluminoso y liposoluble, al contrario que les ocurre a las quinolonas que tienen en ésta posición moléculas lineales (Sumano, 1993).

2.14.2.- PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS.

Las constantes de ionización para danofloxacin son de 6.07 para el grupo del ácido carboxílico en posición 3 y 8.56 para el grupo básico piperazínico en posición 7 (Martinez y cols 2006).

Es importante entender la relación ente pKa, pH y la difusión del fármaco. Los fármacos ionizados son atrapados en el lugar de la infección, dando lugar a una alta

concentración del mismo en el tejido en comparación con la sangre (Martínez y cols., 2006).

Danofloxacino se absorbe rápidamente desde el sitio de inyección y presenta un elevado volumen de distribución, lo que indica una amplia distribución en los tejidos. Presenta una alta solubilidad lipídica, baja unión a proteínas y es dependiente de transportadores de eflujo dependientes de ATP (Escudero y cols., 2007).

2.14.3.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO.

Danofloxacino presenta actividad in vivo frente a gérmenes patógenos que se asocian normalmente con las enfermedades respiratorias y entéricas, incluyendo *Escherichia coli*, *Pasteurella haemolytica*, *P. Multocida* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*. También muestra actividad *in vitro* frente a otras bacterias Gram-negativas (como *Haemophilus somni*), micoplasmas y algunas bacterias Gram-positivas. (Ficha técnica AEMPS de Advocin solución inyectable®, 2008 y Advocin 180®, 2009).

A continuación (Tabla 8) se muestran rangos de CMI₉₀ para microorganismos sensibles. (Hannan y cols., 1997; McKellar y cols., 1998; Geornaras y von Holy, 2001; Geornaras y cols., 2001; Giles y cols., 1991; Yoshimura y cols., 2002; Grobbel y cols., 2007, Gharaibeh y cols., 2010; Ozawa y cols. 2010).

MICROORGANISMOS	CMI ₅₀ µg/mL	CMI ₉₀ µg/mL	RANGO CMI µg/mL
<i>Pasteurella haemolytica</i>		0.125	0.03-2
<i>Pasteurella multocida</i>		0.06	≤0.008-0.25
<i>Haemophilus sonnus</i>		0.06	0.03-0.06
<i>Escherichia Coli</i>	0.25 ≤0.125	16 ≤0.125	≤0.03-256 ≤0.125-1
<i>Mycoplasma</i>			
<i>M. gallisepticum</i>	0.05	0.1	0.01-0.5
<i>M. synoviae</i>	0.25	0.5	0.1-0.5
<i>M. iowae</i>	0.025	0.5	0.01-1
<i>M. hypopneumoniae</i>	0.025	0.05	0.01-0.05
<i>M. hyosynoviae</i>	0.25	0.25	0.1-0.5
<i>M. hyorhinis</i>	0.5	1	0.25-1
<i>M. bovis</i>	0.25	0.5	0.1-2.5
<i>M. agalactiae</i>	0.25	0.5	0.05-2.5
<i>M. dispar</i>		0.02	
ANAEROBIOS			
<i>Clostridium perfringens</i>	4	128	≤0.125 - ≥256
<i>Actinobacillus pleropneumoniae</i>	≤0.05	≤0.05	≤0.05-0.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.25 0.12	2	≤0.125-2 0.016-4.0
<i>Listeria</i>			
<i>L. innocua</i>	2	2	NR
<i>L. monocytogenes</i>	2	2	1-4
<i>Salmonella</i>			
<i>Salm. agona</i>	0.25	0.25	≤0.125-0.25
<i>Salm. blockley</i>	≤0.125	≤0.125	NR
<i>Salm. isangi</i>	≤0.125	≤0.125	NR
<i>Salm. reading</i>	≤0.125	≤0.125	NR
<i>Salm. typhimurium</i>	≤0.125	≤0.125	NR
<i>Staphylococco coagulasa -</i>	0.12		0.06-1.0
<i>Bordetella. bronchiseptica</i>	0.5		0.12-0.5
<i>Streptococco</i>			
<i>S. dysgalactiae</i>	0.5		0.5-1.0
<i>S. uberis</i>	0.5		0.25-1.0

NR: No hay rango. Mismo CMI para todas las cepas

Tabla 8.- Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI₉₀ µg/mL) para algunos microorganismos.

2.14.4- EFICACIA DE DANOFLOXACINO EN DIFERENTES ESPECIES.

A.- BOVINO:

Danofloxacino ha demostrado ser eficaz en ambas presentaciones para el tratamiento de los gérmenes que habitualmente causan infecciones en el ganado bovino, incluyendo enfermedades respiratorias, enteritis, metritis y onfalitis. Los microorganismos aislados fueron *Bacillus spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Micrococcus luteus*, *Pasteurella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.* El 9,6% de ellos, se mostró resistente al fármaco, obteniendo mayores porcentajes las familias de *Enterococcus* y *Streptococcus*. (Caproni Jr. y cols., 2002). Estudios posteriores confirman su eficacia en el tratamiento de diarreas producidas por *Escherichia coli* en terneros (Sunderland y cols., 2003) e infecciones respiratorias causadas por *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* y *Haemophilus somnus* (Rowan y cols. 2004).

La respuesta clínica con danofloxacino fue superior a la obtenida con Sulfametoxazol/trimetropin y oxitetraciclina para el tratamiento de neumonías en terneros y vacas. (Grimshaw y cols., 1990; Giles y cols., 1991). Además presentó, junto con enrofloxacino, menores porcentajes de resistencia frente a cepas de *Mannheimia haemolytica* (katsuda y cols., 2009).

En la mastitis bovina inducida con cepas de *E.coli*, danofloxacino mostró ser eficaz en la recuperación de síntomas clínicos y productividad de la leche. (Poutrel y cols., 2008).

También podría ser empleado para evitar la propagación de la pleuroneumonía bovina contagiosa, enfermedad causada por *Mycoplasma mycoides* y que se transmite por contacto con terneros sanos, enfermedad importante sobretodo en países subdesarrollados como África. (Huebschle y cols., 2006).

B.- OVINO:

En un modelo experimental, se administró danofloxacino a corderos con neumonía inducida por *M. haemolytica*, en dosis única de 6 mg/kg por inyección

subcutánea. Los animales presentaron una recuperación de la infección bacteriana, mejora de la patología pulmonar y signos respiratorios respecto de aquellos a los que se les administró suero fisiológico (Godinho y cols. 2007). Las elevadas concentraciones obtenidas en la leche de cabras y ovejas, favorecen su utilidad en el tratamiento de infecciones mamarias. (Escudero y cols., 2007).

C.- PORCINO:

Danofloxacino presenta una potente actividad frente a distintas cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* y *Salmonella choleraesuis*, con un amplio espectro de resistencias frente a otros antibióticos. Se obtuvieron CMI₉₀ menores respecto del resto de antibióticos testados y fueron 0.125, 0.06 y 0.125 µg/ml, respectivamente (Raemdonck y cols., 1994).

Kim y cols obtuvieron una CMI₉₀ de 2 µg/ml para *Actinobacillus pleuropneumoniae* en un estudio realizado en cerdos con neumonia (kim y cols., 2001).

También demostró ser uno de los agentes mas activos frente a cepas de *Erysipelothrix rhusiopathiae* aisladas de cerdos con erisipela, con CMIs entre 0,1- 0,39 µg/ml (Yamamoto y cols., 2000).

Danofloxacino se distribuye bien por todo el tracto gastrointestinal en cerdos infectados con *Salmonella typhimurium*, pudiendo resultar eficaz en el tratamiento para dichas infecciones (Lindercrona y cols., 2000).

D.- CANINO:

En un estudio realizado en perros con infección del tracto urinario, se testó la susceptibilidad del danofloxacino a las cepas aisladas en orina, siendo sensibles aproximadamente el 51% de ellas (Çetin y cols., 2003).

E.- FELINO:

La administración de danofloxacino en gatos domésticos con infección experimental por *Babesia felis* no tubo ningún efecto significativo, por lo que no es adecuado su uso para este tipo de infecciones (Penzhorn y cols., 2000).

F.- AVE:

Danofloxacino presentó una potencia considerable in vitro frente a cepas de *Escherichia coli* y *Pasteurella multocida* aisladas de aves de corral, que presentaron una extensa resistencia a otros antimicrobianos. Se obtubieron CMI₉₀ de 0.25 µgr/ml respecto de ambos patógenos (Raemdonck y cols.,1992).

En cuanto a la comparación con otras fluorquinolonas, danofloxacino mostró menor eficacia que enrofloxacino, pero mayor que sarafloxacino en la colisepticemia aviar causada por *E. coli* (Charleston y cols., 1998). Otros autores, sin embargo, muestran actividades similares in vitro a enrofloxacino, norfloxacino y ofloxacino (Ozawa y cols., 2010).

Un estudio más amplio, analizó la susceptibilidad de danofloxacino frente a los siguientes patógenos asociados a infecciones aviarias: *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes* y varios serotipos de Salmonella (*Salm. agona*, *Salm. blockley*, *Salm. enteritidis*, *Salm. isangi*, *Salm. reading* y *Salm. typhimurium*). Resultó ser un agente activo con CMI₉₀ que no excedían de 0.25 y 2 µgr/ml para bacterias gram negativas y gram positivas, respectivamente (Geornaras e Ivon Holy ,2001).

Tambien presenta actividad in vitro frente a cepas de *Mycoplasma* causantes de enfermedades respiratorias y de otras localizaciones en vacas, cerdos y aves de corral (Cooper y cols., 1993). Su actividad es similar a enrofloxacino con CMI₉₀ observadas de 0.05 a 1.0 mg/ml en pollos (Hannan y cols. 1997). En el caso de *Mycoplasma gallisepticum*, fue superior a tilosina y con menores lesiones en los sacos aéreos (Kempf y cols., 1992, Tanner y cols., 1993, Migaki y cols., 1993).

Todas las cepas de *Arcobacter butzleri* aisladas en pollos de engorde (broiler chickens) fueron sensibles al fármaco (Atabay y Aydin, 2001).

No se ha observado resistencias frente a *Salmonella enteritidis* en aves de corral ni en vacas ni en vacas, en comparación con otros antibióticos beta-lactámicos, tetraciclinas, kanamicina, lincospectina, chloramphenicol, furazolidona (Morshed y Peighambari 2010). Sin embargo, si presenta una alta tasa de resistencias frente *Enterococcus faecalis*, microorganismo que causan artropatías en pollos (Ciftci y cols. 2009).

G.-CAPRINO

Danofloxacino fue eficaz en el tratamiento de la pleuropneumonia caprina contagiosa caused by *Mycoplasma capricolum*, así como en la reducción de las lesiones pulmonares (Ozdemir y cols., 2006).

H.-OTRAS ESPECIES:

En un estudio realizado en conejos con infección del tracto respiratorio superior, danofloxacino mostró ser efectivo en todas las cepas aisladas de *P. multocida*, al igual que marbofloxacino y enrofloxacino. En el caso de *B. bronchiseptica* y algunas cepas de *Staphilococcus spp.*, se observó una sensibilidad variable (Rouger y cols. 2006). El 80% de las cepas de *S.aureus* testadas frente a danofloxacino, presentaron una CMI < 1 µg/ml. Debido al bajo índice AUC/CMI obtenido por vía subcutánea e intramuscular, no se recomienda su administración por estas vías ya que condiciona la posible selección de cepas resistentes (Férrnandez-Varón y cols., 2007).

Danofloxacino podría ser eficaz frente a infecciones por *Aeromonas hydrophila* en cocodrilos (Turutoglu y cols., 2005).

La eficacia antibacteriana se determinó in vitro en camellos con infección por *E.coli* 0157-H7, y se obtuvieron CMIs en sangre, exudado y transudado, siendo de 0.06, 0.03 y 0.03 µgr/ml respectivamente (Aliabadi y cols., 2003a).

2.14.5- INDICACIONES CLINICAS.

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

Según la ficha técnica, danofloxacino solución inyectable en las presentaciones de 25mg/ml y 180mg/mL, está autorizado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitario para las siguientes indicaciones (Ficha técnica de Advocin solución inyectable® y Advocin 180®, AEMPS 2008 y 2009, respectivamente):

- **En Bovino:** tratamiento de la enfermedad respiratoria bovina provocada por *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* e *Histophilus somni* sensibles a danofloxacino. Tratamiento de la mastitis aguda bovina causada por *Escherichia coli*, sensible a Danofloxacino.
- **Terneros neonatos:** tratamiento de infecciones entéricas provocadas por *Escherichia coli* sensible a danofloxacino.
- **En Porcino:** Tratamiento de las enfermedades respiratorias causadas por *Pasteurella multocida* y *Actinobacillus pleuropneumoniae* y tratamiento de las infecciones entéricas provocadas por *E. coli*.

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 danofloxacino 180 mg/ml en las siguientes condiciones: (Ficha técnica Advocin® 180 mg/ml FDA)

- **Indicaciones:** Tratamiento de enfermedad respiratoria bovina asociada a *Mannheimia* (*Pasteurella*) *haemolytica* and *Pasteurella multocida* en bóvidos.
- **Especie diana:** bóvidos (excluyendo terneros) Cattle (excluding veal calves).
- **Dosis:** 6 mg por Kilo de peso por inyección subcutanea. El tratamiento debería ser repetido aproximadamente 48 horas después de la primera inyección.
- **Limitaciones:**
 - o Los animales destinados al consumo humano no deben ser sacrificados dentro de 4 días desde el último tratamiento.
 - o No usar en animales destinados a la producción lechera.

- Un tiempo de espera no ha sido establecida para este producto en terneros pre-rumiantes.
- No debe usarse en los terneros para ser procesado de carne de ternera.
- La ley federal restringe este medicamento en uso o en la orden de un veterinario con licencia. La ley federal prohíbe el uso fuera de etiqueta de este fármaco en animales productores de alimentos.

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

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

En la presentación de 180mg/ml:

- Bóvidos:
 - Enfermedad respiratoria o entérica: 6 mg/kg de peso corporal (1 ml/30 kg de peso corporal) en inyección única por vía subcutánea o intravenosa. Si persisten los signos clínicos de enfermedad respiratoria o entérica 48 horas después de la primera inyección, puede administrarse otra dosis de 6 mg/kg de peso corporal. Se recomienda tratar a los animales a los primeros signos de enfermedad y evaluar su respuesta al tratamiento a las 48 horas.
 - Mastitis aguda bovina: 6 mg/kg peso corporal (1 ml/30 kg) en inyección única por vía subcutánea o intravenosa. Los signos clínicos deben controlarse cuidadosamente y debe administrarse la terapia de apoyo correspondiente. Si persisten signos clínicos de mastitis aguda 36-48 horas después de la primera inyección, debe revisarse la estrategia del tratamiento antibiótico. Se recomienda tratar los animales al comienzo de la enfermedad y evaluar la respuesta al tratamiento entre las 36-48 horas.

- Para el tratamiento de bovinos con un peso superior a 450 kg, la dosis subcutánea se dividirá de forma que no se inyecten más de 15 ml en el mismo punto.

En la presentación de 25mg/ml:

- Bóvidos:
 - Por vía intramuscular, o intravenosa a la dosis de 1,25 mg de danofloxacino por kg de peso vivo (1 ml por cada 20 kg de peso vivo). Se precisan tres tratamientos con 24 horas de intervalo entre sí. El tratamiento puede ampliarse por un periodo adicional de dos días, en los animales que no se hayan recuperado plenamente después de los tres días de tratamiento inicial. Para el tratamiento de bóvidos que pesen más de 400 kg, la dosis debe dividirse de manera que no se administren más de 20 ml en un mismo punto de aplicación.
- Porcino:
 - Se administrará por vía intramuscular a la dosis de 1,25 mg de danofloxacino por kg de peso vivo (1 ml por cada 20 kg de peso vivo). Se precisan tres tratamientos con 24 horas de intervalo entre sí. Para el tratamiento de cerdos que pesen más de 100 kg, la dosis debe dividirse de manera que no se administren más de 5 ml en un mismo punto de aplicación.

2.14.5.4.- CONTRAINDICACIONES.

El uso de danofloxacino está contraindicado en caso de hipersensibilidad conocida a los ingredientes activos, a otras (fluoro) quinolonas o a cualquier ingrediente del producto (Ficha técnica de Advocin®, AEMPS 2009).

2.14.6- TOXICIDAD Y EFECTOS ADVERSOS.

No existen trabajos publicados que evalúen la toxicidad de danofloxacino en animales. La siguiente información se ha obtenido de la ficha técnica (Ficha técnica de Advocin®, AEMPS 2009) y de observaciones realizadas por algunos autores.

- **Efectos alérgicos.**

En casos muy raros puede ocurrir, en animales sensibles, un shock anafiláctico inmediato o retrasado después de la inyección

- **Efectos tras la administración**

La inyección subcutánea del producto provoca una respuesta inflamatoria moderada en el tejido que circunda el punto de inyección. Las lesiones resultantes pueden durar hasta 30 días. Dicho efecto apareció tras la administración subcutánea en ovejas, resolviéndose a las 24h post-dosis. (Escudero y cols., 2007)

La administración intramuscular de danofloxacino en caballos, aumentó la actividad de CK (Creatinin Kinasa) hasta 3 veces respecto del nivel basal, pero mucho menor a otras fluoquinolonas, como enrofloxacino o marbofloxacino demostrando mejor tolerabilidad (Férrandez- Varón y cols., 2006B).

No se registraron efectos locales o sistémicos, tras la administración de danofloxacino en cabras, ovejas ni tortugas (McKellar y cols., 1998; Atef y cols., 2001; Marín y cols., 2008).

- **Efectos carcinógenos y teratógenos.**

Los estudios con animales de laboratorio han señalado reacciones adversas sobre la reproducción. A altas dosis en ratas (100 a 200 mg/kg/día), se observó retraso en la osificación fetal y dilatación de los ventrículos cerebrales. Las madres tratadas con dosis elevadas produjeron menos crías vivas por camada y el peso y la supervivencia de estas se vio adversamente afectada. No se ha evaluado la seguridad del producto en vacas preñadas. No se recomienda utilizar el producto en vacas durante la gestación.

- **Efectos tras sobredosificación.**

A tres veces la dosis terapéutica (18 mg/kg pv) se indujo eritema de la mucosa nasal y ocular y se redujo la ingesta de comida. Con dosis superiores y exposición prolongada se produjeron daños en el cartílago articular y algunos animales mostraron paresia, ataxia y nistagmo.

2.14.7- INTERACCIONES CON MEDICAMENTOS.

No se han descrito interacciones potenciales con otros medicamentos. (Ficha técnica de Advocin®, AEMPS 2009). La co-administración con ivermectina en ovejas no produjo un efecto significativo en los niveles de danofloxacino en plasma, pero sí produjo una disminución del 40% en la excreción en leche (Real y cols., 2010).

2.14.8- PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS.

2.14.8.1.- ABSORCIÓN Y BIODISPONIBILIDAD.

En bovino

Los estudios hallados en la bibliografía estudian la farmacocinética en animales sanos a distintas posologías y distintas pautas de administración. Se han utilizado dosis de 1 mg/kg, 1.25mg/kg y 5 mg/kg por vía intramuscular, alcanzándose concentraciones máximas de 0.18, 0.28 y 0.82 µg/mL, respectivamente. Como es de esperar, a mayores dosis administradas, se alcanzan mayores concentraciones en sangre. El tiempo en alcanzar dichas concentraciones no supera la hora y media en ningún caso (Shem-Tov y cols., 1998; Mann y Frame, 1992).

En cuanto a la vía subcutánea se han utilizado dosis desde 1.25, 5 y 6 mg/kg. Las concentraciones máximas alcanzadas tienen un rango entre 0.21 a 0.63 µg/mL y una T_{max} entre 1.25 y 2.17 h. (Mann y Frame, 1992; Mckellar y cols., 1999, Aliabadi y Lees, 2003; Mestorino y cols., 2009)

La biodisponibilidad por ambas vías son similares, incluso algo mayor para la vía intramuscular, con porcentajes $\geq 72\%$. El estudio realizado por Shem-Tov y cols., registró una biodisponibilidad del 289% tras la administración de danofloxacino intramuscular, sugiriendo un posible efecto “flip-flop” en vacas lecheras. (Shem-Tov y cols., 1998)

En caprino

Existen varios estudios que utilizan danofloxacino por vía intramuscular a dosis de 1.25 mg/kg, alcanzándose concentraciones plasmáticas máximas entre 0.29-0.33 µg/mL, y que aparecieron en el transcurso de 1 hora tras la administración (Atef y cols., 2001; Aliabadi y Lees, 2001; Ismail, 2006).

El perfil farmacocinético parece discrepar si se trata de animales enfermos. Un estudio compara la administración de danofloxacino intramuscular en cabras sanas e inoculadas con endotoxina de *E.coli*. Las concentraciones máximas fueron superiores en las cabras febriles (0.42 vs 0.29 µg/mL) y el tiempo necesario para alcanzarlas fue menor (0.75 vs 1 hora) (Ismail, 2006).

Por otro lado, Escudero y cols. estudiaron la farmacocinética de una dosis de 6mg/kg por vía subcutánea, que condujo a concentraciones y tiempos máximos superiores, de 1.05 µg/mL y 1.64 horas, respectivamente. (Escudero y cols. 2007)

La biodisponibilidad de la vía sc e im es elevada (>95%) a excepción del estudio realizado por Atef y cols. donde se obtuvo una biodisponibilidad del 65.7%, debido posiblemente a diferencias en el flujo sanguíneo de la zona de inyección (Atef y cols., 2001; Aliabadi y Lees, 2001; Ismail, 2006; Escudero y cols., 2007).

En porcino

La dosis de 5 mg/kg por vía intramuscular, alcanza a los 48 minutos una concentración máxima de 0.8 µg/mL. El sitio de inyección (cuello o muslo) es independiente y no genera diferencias en el perfil farmacocinético. Por vía oral, presenta una concentración máxima menor (0.42 µg/mL) a partir de las tres horas tras la administración del fármaco. La biodisponibilidad es extensa por ambas vías (Mann y Frame, 1992).

Lauritzen y cols., compararon la administración de una dosis única de 2.5mg/kg frente a la misma dosis pero fraccionada en 4 días, en cerdos infectados con *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Se alcanzaron concentraciones máximas más elevadas con la administración única pero eficacias de tratamiento similares (Lauritzen y cols., 2003).

En ovino

Danofloxacino administrado por vía intramuscular a dosis de 1.25mg/kg alcanza concentraciones máximas entre 0.32 y 1.2 µg/mL a tiempos entre 0.5-1.23 horas (Shem-Tov y cols., 1997; McKellar y cols., 1998; Shojaee Aliabadi y cols., 2003b).

Por vía vía subcutánea a dosis de 6 mg/kg alcanza una concentración máxima de 1.48 µg/mL y un tiempo máximo de 1.63 horas (Escudero y cols., 2007).

La biodisponibilidad es muy alta por ambas vías, siendo del 93.6% por vía subcutánea y $\geq 95\%$ para la vía intramuscular (Shem-Tov y cols., 1997; McKellar y cols., 1998; Shojaee Aliabadi y cols., 2003b; Escudero y cols., 2007).

En aves

Se han realizado estudios en animales sanos con dosis de 5 mg/kg y 6 mg/kg por vía oral. Las concentraciones plasmáticas alcanzadas varían entre 0.47 y 1.17 $\mu\text{g/mL}$ que aparecen a partir de las 2.33 horas tras la administración del fármaco (Lynch y cols., 1994; Knoll y cols., 1999; Haritova y cols., 2006; Goudah y Mouneir, 2009; Zeng y cols., 2010). En animales infectados con *Pasteurella multocida*, se alcanzó una concentración máxima de 0.43 $\mu\text{g/mL}$ a las 6 horas de la administración. (Zeng y cols., 2010)

Goudah y Mounier, comparan la farmacocinética de danofloxacino administrada por vía intramuscular y oral a dosis de 5 mg/kg en patos. Se alcanzan concentraciones y tiempos máximos similares (0.89 vs 0.81 $\mu\text{g/mL}$ y 1.17 vs 1.21 horas). La biodisponibilidad es superior al 89% en ambas vías, siendo mayor por vía intramuscular (Goudah y Mouneir., 2009).

En otros animales

En caballos, la administración de danofloxacino por vía intramuscular, mostró una buena absorción y biodisponibilidad absoluta del 88.49%, similar a otras fluorquinolonas. Sin embargo, su administración por vía intragástrica a través de una sonda de alimentación, redujo la disponibilidad al 22.36%, limitando el posible uso oral en estos animales (Fernández-Varón y cols., 2006a)

En conejos y tortugas, la administración de danofloxacino a dosis de 6 mg/kg por vía intramuscular y subcutánea, presenta similares perfiles de absorción y una biodisponibilidad elevada (Fernandez-Varón y cols., 2007; Marín y cols, 2008).

En camellos, alcanza concentraciones maximas de 0.49 $\mu\text{g/mL}$ antes de las 2 horas de su administración, con una biodisponibilidad de 76.3% (Aliabadi y cols., 2003b).

En burros, a dosis de 1.25mg/kg por via intramuscular, danofloxacino presenta una Cmax muy baja (0.15 $\mu\text{g/ml}$) comparado con el resto de animales, por lo que

deberían de establecerse dosis de carga mayores, sobretodo si tenemos en cuenta su actividad concentración-dependiente. (Kum y cols., 2008).

2.14.8.2.-DISTRIBUCIÓN.

En bovino

En vacas, búfalos y terneros, danofloxacino presentó una rápida distribución por todo el organismo, con volúmenes en el estado estacionario desde 2.04 hasta 4.3 L/Kg para dosis de 1.25mg/kg (Friis, 1993; Shem-Tov y cols., 1998; Shojaee Aliabadi y Lees, 2003; Sappal y cols., 2009) y de 5.79 L/Kg para dosis de 6mg/kg (Mestorino y cols., 2009). La semivida de eliminación varía entre las 2.3 y 12.53 horas dependiendo de la dosis y la vía de administración. (Mann y Fram, 1992; Friis, 1993; Shem-Tov y cols., 1998; Sarasola y cols., 2002; Shojaee Aliabadi y Lees, 2003; Sappal y cols., 2009; Mestorino y cols., 2009). En el estudio realizado por Sarasola y cols., la semivida de eliminación obtenida tras la inyección de danofloxacino en bolo respecto de su administración en perfusión continúa de 36h, fue el aproximadamente el doble (Sarasola y cols., 2002).

La eficacia de un fármaco puede ser afectada por el grado de unión a las proteínas plasmáticas. Para Danofloxacino se han registrado porcentajes del 36% (Sappal y cols., 2009) y del 49% (Friis, 1993), que junto con un elevado volumen de distribución, permite una extensa penetración en tejidos y fluidos intracelulares y extravasculares. Se han observado concentraciones muy superiores en leche respecto del plasma, tras 4 horas de la administración del fármaco por vía intravenosa, intramuscular o subcutánea (Shem-Tov y cols., 1998; Mestorino y cols., 2009).

También son elevadas las concentraciones analizadas en la glándula mamaria, nódulos linfáticos mesentéricos, útero, duodeno, yeyuno, ileon, y colon. (Mestorino y cols., 2009).

Shojaee Aliabadi y Lees analizaron aspectos de la distribución extravascular de danofloxacino. La penetración en el exudado es relativamente lenta, mientras que la semivida de eliminación fue casi cuatro veces más que las del suero (10,16 h para trasudado vs 2,7 h para el suero). El AUC del trasudado fue ligeramente

superior al suero (1.45 h $\mu\text{g} / \text{ml}$, frente a 1,24 h $\mu\text{g} / \text{ml}$) (Shojaee Aliabadi y Lees, 2003).

En cuanto la zona pulmonar danofloxacino obtuvo las concentraciones máximas en una hora tras la administración. El AUC obtenido fue de 5 h* $\mu\text{g}/\text{ml}$ para tejido pulmonar, 3 h* $\mu\text{g}/\text{ml}$ para la mucosa bronquial, 0.85 h* $\mu\text{g}/\text{ml}$ para las secreciones bronquiales y 0.42 h* $\mu\text{g}/\text{ml}$ para las secreciones nasales. El obtenido en plasma fue de 2.71-2.83 h* $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Friis, 2003).

Las concentraciones que alcanza en sangre, exudado y secreciones bronquiales superiores a la CMI_{90} para los patógenos bovinos más comunes, incluyendo *P. multocida* (McKellar y cols., 1999).

En caprino

Danofloxacino presenta volúmenes de distribución en estado estacionario desde 1.41 hasta 3.02 L/Kg para dosis de 1.25mg/kg (Atef y cols., 2001; Aliabadi y Lees, 2001; Ismail, 2006;) y 7.81 L/Kg para dosis de 6 mg/kg (Escudero y cols. 2007). No existen grandes diferencias si se compara dicho parámetro farmacocinético en cabras sanas (2.64 L/Kg) respecto de cabras febriles (2.39 L/Kg) (Ismail, 2006).

En cuanto a la semivida de eliminación en cabras sanas a dosis de 1.25mg/kg se obtienen valores comprendidos entre 1.35- 4.67 h para la vía intravenosa y entre 2.37- 4.5 h para la vía intramuscular (Atef y cols., 2001; Aliabadi y Lees, 2001; Ismail, 2006;). En cabras enfermas, los valores se alargan hasta 6.54h y 6.65h, respectivamente. A dosis mayores (6mg/kg) se obtuvo una semivida de 5.46h para la vía intravenosa y de 4.09h para la vía subcutánea (Escudero y cols. 2007).

El fármaco presenta una distribución rápida y amplia con un bajo porcentaje (13.55%) de unión a proteínas plasmáticas (Atef y cols., 2001).

Las concentraciones medias halladas en leche fueron aproximadamente 13 veces mayor que el plasma a las 12h post-dosis y 4 veces superior tras 24 post-dosis (Escudero y cols. 2007).

El porcentaje de penetración en el exudado y trasudado fue lenta, pero su eliminación desde los fluidos fue dos veces respecto la del plasma (Aliabadi y Lees, 2001).

En ovino

En los estudios hallados en la bibliografía Danofloxacino alcanza valores de volúmenes de distribución entre 1.9 y 2.73 L/Kg y semividas de eliminación entre 3.07 y 4.6h (Shem-Tov y cols., 1997; McKellar y cols., 1998; Shojaee Aliabadi y cols., 2003b; Escudero y cols., 2007).

La penetración del fármaco desde el plasma hacia la leche fue rápida y extensa, sobrepasando las concentraciones plasmáticas a los 60-90 minutos tras la administración (Shem-Tov y cols., 1997). En el estudio realizado por Escudero y cols. se obtuvo concentraciones en leche aproximadamente 10 veces superior a las del plasma a las 12 horas post-dosis y 8 veces superior a las 24 horas post-dosis (Escudero y cols., 2007).

Las propiedades farmacocinéticas de danofloxacino en tejidos inflamatorios (exudado) y no inflamatorios (transudado) fueron evaluadas por Shojaee Aliabadi y cols. (2003b). La penetración del fármaco fue más rápida en el tejido inflamado. Desde las 6 horas post-administración y hasta el fin del muestreo, las concentraciones en ambos fluidos fueron mayores que en plasma. Se obtuvieron AUC de 2.57 y 1.70 h*µg/ml, respectivamente. Sin embargo, la semivida de eliminación fue mucho más elevada (3.17 h en plasma, 17.6 h en exudado y 10.5 h en transudado) (Shojaee Aliabadi y cols., 2003b).

Se obtuvieron las máximas concentraciones tras la administración intramuscular, en plasma (0.43 µg/mL), pulmón (1.51 µg/mL), y la piel interdigital (0.64 µg/mL) tras 1 h, contenido duodenal (0.81 µg/mL), los ganglios linfáticos (4.61 µg/mL), y el cerebro (0.06 µg/mL) a las 2 h, en el yeyuno (10.50 µg/mL) e íleon (5.25 µg/mL) a las 4 h, y en el contenido del colon (8.94 µg/mL) a las 8 h (McKellar y cols., 1998).

En porcino

Lindecrona y cols., obtuvieron un volumen de distribución de 5.2 y 3.8 L/Kg y semividas de eliminación de 6.7 y 9.4h tras la administración intravenosa de una dosis de 2.4 mg/kg en cerdos sanos e infectados con *Salmonella typhimurium*. En ambos grupos, la AUCs obtenidas a lo largo del intestino y nódulos linfáticos fueron superiores al plasma. Se registraron una unión a proteínas plasmáticas del 44% y 53%, en animales sanos e infectados, respectivamente (Lindecrona y Friis, 2000).

Tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía intramuscular, las concentraciones de danofloxacino fueron superiores a las del plasma a las 2, 4, 8 y 12 post-dosis. También lo fueron tras la administración ad libitum de 40mg/kg en la comida o en el agua bebida a 20 mg/L a las 26, 30 y 36 horas. La semivida de eliminación fue de 8, 6.8, 9.8 h para las vías intravenosa, intramuscular y oral (Mann y Frame, 1992).

En aves

El volumen de distribución en estado estacionario plasmático es de 5.41 L/Kg en patos, 6.59 L/Kg en pavos y entre 8-10.2 L/Kg en pollos, y con semividas de eliminación entre 2.39 y 13.05 h, siendo las de menor valor las correspondientes a los patos (Lynch y cols., 1994; Knoll y cols., 1999; Haritova y cols., 2006; Goudah y Mouneir, 2009; Zeng y cols., 2010). El elevado volumen de distribución puede atribuirse a su alta solubilidad en lípidos, alta penetración intracelular, unión a transportadores de eflujo ATP-dependiente y baja unión a proteínas plasmáticas (17-27%) (Haritova y cols., 2006; Goudah y Mouneir, 2009).

Las concentraciones medias en estado estacionario, en hígado, riñón, pulmón, traquea, miocardio, músculo, piel y pared cecal fueron superiores a las obtenidas en plasma con una $C_{\text{tejido}}/C_{\text{plasma}} \geq 1.25$, lo que implica una tendencia del fármaco a distribuirse en los tejidos (Knolly cols., 1999). El hígado y riñón son fundamentalmente los órganos donde se observa un mayor acúmulo de residuos (Lynch y cols., 1994; Goudah y Mouneir, 2009; Zeng y cols., 2010).

En el cuadro de un proceso infeccioso, las concentraciones de danofloxacino en plasma y tejidos de pollos infectados (a excepción del músculo), fueron más bajas que los animales no infectados. Esto puede deberse al tipo de infección, pues afecta a la mucosa intestinal, y por lo tanto a la absorción sistémica del fármaco (Zeng y cols., 2010).

En otros animales

En tortugas, caballos, camellos, conejos y monos se han obtenido volúmenes de administración de 1.02, 2.0, 2.53, 3.16 y 5.95 L/Kg respectivamente. Las semividas de eliminación oscilan en un rango de 4.74-6.31 h en caballos, 4.88-8.2 h en conejos, 5.37-5.71 h en camellos, 6.36-7.25h en pavos y 14.70-18.71 h en tortugas

(Aliabadi y cols., 2003a; Fernández- Varon y cols., 2006a; Fernandez-Varón y cols., 2007; Marín y cols., 2008).

En camellos, danofloxacino penetra muy lentamente en tejidos inflamados y no inflamados, siendo su eliminación dos veces la del plasma, tanto en la administración intravenosa como intramuscular (Aliabadi y cols., 2003a).

2.14.8.3.- METABOLISMO Y EXCRECIÓN.

La excreción de Danofloxacino, al igual que otros fármacos del mismo grupo, es principalmente por vía renal. En la orina, se presenta mayoritariamente en su forma ionizada, y por tanto presenta una alta solubilidad, que evita su reabsorción en la sangre por un mecanismo de atrapamiento de iones, siendo de gran utilidad en el tratamiento de infecciones urinarias (Atef y cols., 2001).

En terneros y cerdos, tras administrar tres dosis diarias de danofloxacino a dosis de 2 mg/kg via intramuscular, las concentraciones medias en orina oscilaron desde 44 hasta 54 µg/ml, excretándose de forma inalterada en un rango de 38 a 51% de la dosis administrada. Las concentraciones de hasta 50 µgr/ml obtenidas 24 horas despues tras la administración parecen suficientes para tratar infecciones del tracto urinario en estos animales. En la bilis, la concentración media de danofloxacino a las 12h-postdosis fue de 1,71 y 3,05 µg/ml, disminuyendo a 0,20 y 0,85 µg/ml, respectivamente, a las 24 horas (Mann y Frame, 1992).

En cabras, Danofloxacino se excreta en orina a concentraciones superiores que las del plasma. Tras la inyección intravenosa, la concentración más elevada fue de 58.58 µg/ml a los 30 minutos. Gradualmente, la concentración comienza a disminuir hasta su menor valor a las 24 horas. Tras la inyección intramuscular, la concentración más alta (64.65 µg/ml) se alcanza tras 1 hora, , y desciende gradualmente hasta 0.084 a las 72h post-inyección. La relación entre del aclaramiento de danofloxacino/aclaramiento creatinina ≥ 1 en todos los tiempos de muestreo (Atef y cols., 2001).

Danofloxacino a dosis de 0.738mg/kg por bolo intravenoso o en perfusión continua de 36horas, alcanza semividas de 4.3 y 2.3 horas, respectivamente, en vacas infectadas con *Mannheimia* (*Pasteurella*) *haemolytica* (Sarasola y cols., 2002).

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.- MATERIAL

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

3.1.1.- MATERIAL FUNGIBLE

- Agujas para extracción de sangre Venoject®
- Tubos heparinizados al vacío para extracción de sangre Venoject®
- Holder Venoject®
- Jeringas de varios volúmenes
- Agujas hipodérmicas.
- Tubos de ensayo de varias capacidades.
- Micropipetas de varias capacidades Gilson®.
- Puntas para micropipetas de varias capacidades.
- 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 de cristal para autoinyector del equipo HPLC, Wheaton, USA.
- Tubos Eppendorf 1,5 y 2 mL.

3.1.2.- PRODUCTOS Y REACTIVOS

- Agua bidestilada
- Advocin 180® 180 mg/ml (Pfizer S.A., Madrid, España)
- Polímero 407 (BASF, Alemania)
- Carboximetilcelulosa sódica (Sigma-Aldrich, USA)

- Ácido trifluoroacético (Panreac, Barcelona, España)
- Danofloxacino puro (Sigma-Aldrich, Seelze, Alemania)
- Enrofloxacino puro (Monheim, Alemania)
- Acetonitrilo HPLC (Scharlau, Barcelona, España).
- Agua para HPLC (Panreac, Barcelona, España).
- Metanol para HPLC (VWR Prolabo International, EC)

3.1.3.- APARATOS

- 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 Precision (Mettler, Toledo), pesada entre 0.01 y 30 mg.
- Centrífuga ALC modelo 4236.
- Congelador Sanyo MDF (- 45 °C).
- Neveras portátiles isotérmicas
- pHmetro Crison Digit 501
- Sonicador Branson 2200.
- Frigorífico Electrolux[®] modelo ER 3818C.
- Ordenador personal Pentium IV.
- HPLC compuesto de:
 - Bomba cuaternaria modelo LC-10ALvp (Shimadzu).
 - Detector de fluorescencia de modelo RF-10Axl (Shimadzu).
 - Autoinyector modelo SIL-10Advp (Shimadzu), con refrigeración por sistema Peltier.
 - Desgasificador DGU 14A (Shimadzu).
 - Módulo mezclador FCV-10AL-VP (Shimadzu).
 - Horno para columnas CTO-10 ASvp (Shimadzu) con rango de temperaturas 4-80° C.

- PC con el programa Class-VP Chromatography Data System (Shimadzu)
- Columnas Kromasil C₁₈ 5 μm 250 x 4.6 mm ID (Tecnokroma).
- Precolumnas con la misma composición que la columna.

3.1.4.- SOFTWARE INFORMÁTICO

- Programa de Análisis Farmacocinético Winnonlin Professional[®] versión 5.2.1.
- Programa de análisis farmacocinético MULTIFIT (PROOST, 1997).
- Paquete de análisis estadístico SPSS[®] versión 12.0.1, Chicago, 2003.
- Paquete de análisis estadístico STATGRAPHICS Plus (versión 5) Manugistics, Inc., Rockville, USA.
- Programa de gráficos PRISM 3.0. para WINDOWS (GRAPHPAD SOFT.INC.).
- Programa para simulación de estructuras químicas CHEMDRAW Ultra Versión 6.0. y CS CHEM3D STD.
- Procesador de textos Microsoft[®] Word 2003 y Hoja de cálculo Microsoft[®] Excel 2003.

3.2.- ANIMALES

Para la realización del presente estudio se han utilizado seis cabras de la raza Murciano-Granadina con pesos comprendidos entre los 39.6 y los 47 kg y de 2 a 4 años de edad procedentes de la granja de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia. Los animales estuvieron estabulados durante el ensayo con alimento y bebida *ad libitum*. 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

Se realizó un estudio cruzado (2x2x1x1) en 4 fases, con un intervalo entre cada fase de 15 días para asegurar la ausencia de interferencias entre cada uno de los estudios. Danofloxacino (Advocin 180®, Pfizer) fue administrado por las siguientes vías de administración y a las siguientes dosis:

- Administración intravenosa (IV): 6 mg/kg
- Administración subcutánea (SC): 6 mg/kg
- Administración subcutánea en formulación de liberación sostenida: 18 mg/kg de danofloxacino con gel P407 añadido al 25% (SC₁).
- Administración subcutánea en formulación de liberación sostenida: 18 mg/kg de danofloxacino con gel P407 al 25% y carboximetilcelulosa al 2% (SC₂)

En el caso de las formulaciones de liberación sostenida, su preparación se llevó a cabo de la siguiente manera: en un reactor con recirculación de agua refrigerada a 4 °C se adicionó el volumen requerido de la solución comercial de danofloxacino (Advocin 180®, Pfizer). Una vez que se alcanzó la temperatura de 4 °C en el interior del reactor, se añadió lentamente la cantidad apropiada de P407 (25 %), con agitación constante, hasta lograr su completa disolución. En el caso de la formulación con carboximetilcelulosa como coadyuvante (2 %), esta se adicionó previamente a la solución comercial de danofloxacino a temperatura ambiente, y posteriormente, tras el enfriamiento de la disolución (4 °C), se adicionó el poloxamer 407.

ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA

Se administró a cada uno de los animales, en la vena yugular izquierda, una dosis única de danofloxacino (Advocin 180®) de 6 mg/kg de peso corporal. Las extracciones de sangre se realizaron de la vena yugular derecha en tubos Venoject® a los siguientes tiempos: blanco (inmediatamente anterior a la administración), 5, 10, 15, 30, 45 minutos y 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 32 y 48 horas desde la administración del fármaco.

ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA

En las seis cabras se administró una dosis de 6 mg/kg de danofloxacino bajo la piel en la región lateral derecha a la línea media dorsal a nivel toracolumbar. Las muestras se recogieron de la venas yugulares izquierda y derecha a los siguientes tiempos: blanco (inmediatamente antes de la administración del antibiótico), 5, 10, 15, 30, 45 minutos y 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 32 y 48 horas desde la administración del fármaco.

ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA EN LIBERACIÓN RETARDADA CON GEL P407

En las seis cabras se administró una dosis de 18 mg/kg de danofloxacino de la formulación con gel P407 bajo la piel, en la región lateral derecha a la línea dorsal media a nivel toracolumbar. Las muestras se recogieron de la venas yugulares izquierda y derecha a los siguientes tiempos: blanco (inmediatamente antes de la administración del antibiótico), 5, 10, 15, 30, 45 minutos y 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 32, 48, 72, 96 y 120 horas desde la administración del fármaco.

ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA EN LIBERACIÓN RETARDADA CON GEL P407 Y CARBOXIMETILCELULOSA

En las seis cabras se administró una dosis de 18 mg/kg de danofloxacino con el gel P407 más carboximetilcelulosa bajo la piel, en la región lateral derecha a la línea dorsal media a nivel toracolumbar. Las muestras se recogieron de la venas yugulares izquierda y derecha a los siguientes tiempos: blanco (inmediatamente antes de la administración del antibiótico), 5, 10, 15, 30, 45 minutos y 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 32, 48, 72, 96 y 120 horas desde la administración del fármaco.

Tras las administraciones subcutáneas, se evaluó el daño de la administración en el punto de inyección (previamente, convenientemente depilado), mediante la

observación de signos de dolor por parte del animal, cojera, control de la temperatura dérmica en el punto de la administración, reacciones inflamatorias, formación de induraciones, etc.

TOMA DE MUESTRAS

Las muestras de sangre (5 mL) se recogieron mediante tubos heparinizados y al vacío (Vacutainers®). A continuación se centrifugaron durante 10 minutos a 1500 g para obtener el plasma, que posteriormente era congelado por duplicado a -45° C, en los treinta minutos siguientes a la extracción.

3.4.- TÉCNICA ANALÍTICA

Las concentraciones de danofloxacino en plasma fueron determinadas mediante un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) modificado del descrito por Siefert et al. (1999).

El procesamiento de muestras fue el siguiente: a 200 µL de plasma se le añadían 5 µL del estándar interno (enrofloxacino 100000 µg/L) y 200 µL de acetonitrilo. La precipitación de proteínas se realizaba por agitación en un baño de ultrasonidos seguido de centrifugación durante 10 min a 3000 rpm. Del sobrenadante se extraían 100 µL y se llevaban a un vial donde se diluían 4 veces con la fase móvil a emplear para el análisis por HPLC. La separación se llevó a cabo utilizando una columna en fase reversa Kinetex PFP C₁₈ de 100 x 4.6 mm de diámetro interno y 2.6 µm de diámetro de poro, con un volumen de inyección de 20 µL. La determinación se realizó en modo isocrático. La fase móvil estaba compuesta por acetonitrilo (20 %) y ácido trifluoroacético al 0.1 % (80 %). La velocidad de flujo de la misma fue de 1,6 mL/min. La detección se realizó a una longitud de onda de excitación de 280 nm y una longitud de onda de emisión de 440 nm. La duración de los cromatogramas fue de siete minutos.

3.5.- VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA

LINEALIDAD

Las curvas de calibrado se prepararon con 8 concentraciones diferentes de danofloxacino entre 5 y 1000 µg/L usando blancos de plasma de cabra y adicionando el estándar interno. El estándar interno empleado fue enrofloxacino. El coeficiente de correlación (r) obtenido fue > 0,999 % para todas las curvas de calibrado.

Las soluciones estándar de danofloxacino se prepararon mediante diluciones seriadas en metanol hasta alcanzar concentraciones finales de 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 µg/L. La cantidad de estándar interno añadido fue de 5 µL a una concentración de 100000 µg/L. Los controles se prepararon a partir de un pool de blancos de plasma con cantidades conocidas de danofloxacino para alcanzar concentraciones similares. Las alícuotas de los estándares, controles y muestras fueron procesadas como se ha descrito anteriormente y se inyectaron 20 µL en el sistema cromatográfico.

RECUPERACIÓN

Los porcentajes de recuperación se determinaron comparando las áreas de los picos de los controles a las distintas concentraciones de fármaco, 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 para las concentraciones de danofloxacino de 50, 500 y 1000 µg/L. La media de recuperación fue 95.67 ± 11.75 %.

PRECISIÓN

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 tres concentraciones estándar usadas para las curvas de calibrado (RSD < 1.57 %). La precisión inter-día se estimó mediante el análisis de tres concentraciones estándar durante tres días consecutivos (RSD < 8.54 %).

Límite de cuantificación y detección

El límite de detección de danofloxacino en plasma se estableció para la concentración más baja que se podía detectar diferenciándola del ruido de fondo del aparato. El límite de cuantificación se estableció para el nivel de concentración más bajo utilizado en las curvas de calibrado y para el que el RSD fue menor del 15%. De este modo, el límite de detección para danofloxacino en plasma resultó ser de 4.3 µg/L y el límite de cuantificación 5 µg/L.

3.6.- ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

3.6.1.- PLASMA. ANÁLISIS COMPARTIMENTAL

Una vez obtenidas las concentraciones de danofloxacino en plasma a los diferentes 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 cual era la ecuación que mejor se ajustaba a los datos observados fue el Criterio de Información de Akaike ó AIC (Yamaoka et al., 1978), cuya expresión es:

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

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

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 la administraciones extravasculares (subcutáneas) e intravenosa. Este parámetro queda indicado como F.

3.7.- MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Para el desarrollo de este trabajo se han llevado a cabo una serie de estudios estadísticos con el fin de obtener los datos estadísticos más importantes y evaluar la homogeneidad de los datos utilizados.

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

Para verificar la homogeneidad de las distintas concentraciones obtenidas para cada tiempo de extracción, se ha utilizado el test de Kolmogorov-Smirnov, mediante el cual se ha comprobado el ajuste de dichas concentraciones a la distribución normal. También se ha utilizado esta prueba para verificar la existencia o no de diferencias entre los valores de los distintos parámetros farmacocinéticos obtenidos para un mismo modelo de ajuste, considerando cada vía de administración de danofloxacino.

Además, se calcularon el coeficiente de correlación R y de determinación R² para comparar el ajuste entre las concentraciones experimentales y las concentraciones teóricas para cada animal y vía de administración.

Para detectar la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos obtenidos entre las distintas vías de administración se han utilizado métodos paramétricos, test t-student, y métodos no paramétricos, test Mann-Whitney.

4.- RESULTADOS

4.1.- ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE DANOFLOXACINO.

Los valores de concentración plasmática de danofloxacino, obtenidos tras la administración intravenosa de 6 mg/kg de peso a cabras, se muestran en la Tabla 1. En todos los casos, se observa como, en los animales se produce un descenso rápido de las concentraciones durante las primeras 2 horas tras la administración. Posteriormente, ese descenso continua pero de manera más lenta. Este hecho se puede corroborar observando los Gráficos 2 a 7, correspondientes a cada animal y en el Gráfico 1, correspondiente a las concentraciones medias.

La evolución de los valores medios de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino a los distintos tiempos de extracción, se muestra en el Gráfico 1, representado en forma semilogarítmica. En la Tabla 2 se muestran dichos valores medios junto con sus estadísticos.

Con respecto al coeficiente de variación, Wagner (1968) indica que, en los ensayos farmacocinéticos, cuando los valores de concentración plasmática se distribuyen normalmente, los coeficientes de variación que se obtienen, oscilan entre el 25% y 75%. Además, establece que el número de animales idóneo a utilizar en estos estudios debe estar comprendido entre 5 y 20. Como se puede observar en la Tabla 2, hemos obtenido valores por debajo del 75% en todas las extracciones incluso inferiores a ese 25%, encontrándose el mínimo valor de coeficiente en 10,52 % y el máximo en 27,04%, correspondientes a las 0,75 y 10 horas, respectivamente.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, se ha realizado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV entre todos los valores de concentración plasmática de danofloxacino, obtenidos en los diferentes animales para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este estudio se muestran en la Tabla 2, donde puede apreciarse que el nivel de significación es muy elevado para todos los tiempos de extracción, salvo el valor correspondiente a la concentración obtenida a las 0,25 horas, sin embargo, el coeficiente de variación no supera el 14.03%.

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

Vista pues, la idoneidad de los datos, se ha procedido al ajuste de los mismos a modelos farmacocinéticos lineales mono, bi y tricompartmentales, primero mediante regresión lineal por el método de mínimos cuadrados, utilizando el programa PKCALC (Shumaker, 1986), y a continuación, partiendo de los parámetros obtenidos en el anterior, mediante regresión no lineal utilizando el programa MULTI (Yamaoka y cols., 1981).

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

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes a un ajuste bicompartimental para cada uno de los animales, se muestran en la Tabla 3. Sus respectivos valores medios, así como otros estadísticos de desviación quedan reflejados en la Tabla 4, en la cual se observa como los coeficientes de variación son inferiores al 75% señalado por Wagner (1968), correspondiendo los mayores valores a las constantes de transferencia k_{12} y K_{21} . Estos coeficientes de variación son un indicio de la homogeneidad de los parámetros obtenidos para el ajuste bicompartimental.

Para concretar la idoneidad de los datos, se ha realizado una prueba de KOLMOGOROV-SMIRNOV, cuyos resultados se muestran en la Tabla 4, donde se comprueba que en general, los niveles de significación son elevados en todos los parámetros, excepto para la vida media ($t_{1/2\lambda z}$) y la constante de transferencia K_{12} .

En la Tabla 5 se pone de manifiesto las relaciones que se establecen entre las constantes híbridas de disposición rápida y lenta (λ_1 y λ_2), las microconstantes de transferencia y retorno entre los compartimentos central y periférico (k_{12} y k_{21}), y la constante de eliminación (k_{10}) para cada cabra. En la Tabla 6 se muestran los estadísticos más importantes de dichas relaciones, así como sus respectivos valores medios.

Se ha realizado un análisis de regresión y uno de correlación para demostrar la existencia de una buena correlación entre las concentraciones experimentales y teóricas de cada animal. Los resultados de dicho estudio aparecen reflejados en las Tabla 9, en la que se comprueba que no existen diferencias significativas entre las mismas, por lo que las concentraciones teóricas son plenamente representativas del proceso y el ajuste obtenido es totalmente válido.

La Tabla 10 muestra los resultados del estudio farmacocinético no compartimental, obtenidos mediante el programa WINNONLIN Professional[™] (versión 5.0), para cada animal. En dicha Tabla aparecen los valores de la concentración inicial en plasma (C_0), área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC) y el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo 0 hasta 24 horas (AUC_{0-24h}), el área bajo el momento de la curva (AUMC), el tiempo medio de residencia (MRT), el aclaramiento (Cl) y el volumen aparente de distribución en función del área bajo la curva (V_z) no compartimentales. Las medias de dichos valores, así como los estadísticos más relevantes, aparecen en la Tabla 11. Finalmente, se ha realizado a dichos valores la prueba de KOLMOGOROV-SMIRNOV, y los resultados correspondientes aparecen en la Tabla 11. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación y unos niveles de significación dentro de los niveles considerados adecuados por Wagner (1968).

4.2.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE DANOFLOXACINO.

La Tabla 12 muestra los valores de concentración plasmática de danofloxacino obtenidos tras la administración subcutánea de una dosis de 6 mg/kg de peso. Se observa como en los seis animales, a partir del primer tiempo de extracción la concentración del fármaco va aumentando hasta aproximadamente las 1,5 - 2 horas, y posteriormente va descendiendo paulatinamente, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 24 horas tras la administración.

Las correspondientes representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino obtenidas en cada animal tras su administración subcutánea se muestran en los Gráficos 9 a 14.

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino, junto con los estadísticos de desviación, se presentan en la Tabla 13. Entre estos estadísticos figura el coeficiente de variación que en todos los casos es inferior al límite máximo admisible del 75% indicado por Wagner (1968), concretamente el valor mínimo del coeficiente de variación en nuestro caso es de 9,99 % (a las 4 horas de la administración) y el máximo de 44,59% (a las 0,083 horas de la administración). La representación gráfica de los valores medios de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino, a los distintos tiempos de extracción se muestra en el Gráfico 8.

Para confirmar la homogeneidad de los datos se realizó el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV entre todos los valores de concentraciones plasmáticas de danofloxacino obtenidas en los distintos animales para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este test, se muestran en la Tabla 13. Como se puede observar, se obtienen niveles de significación elevados en todos los tiempos, a excepción de las 0,18, 8 y 10 horas que son más bajos.

De la misma manera que en la administración intravenosa del fármaco, se ha procedido al ajuste de las concentraciones plasmáticas obtenidas experimentalmente en cada uno de los animales, a modelos farmacocinéticos mono, bi y tricompartmentales, sin ponderación de los datos y con ponderación de los datos, obteniéndose mejores resultados cuando se utilizaba un modelo monocompartimental y se ponderaban las concentraciones.

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste monocompartimental, para cada uno de los animales, se presentan en la Tabla 14. Los valores medios de estos parámetros así como diversos estadísticos de desviación, quedan reflejados en la Tabla 15. Como se puede observar, los coeficientes de variación oscilan entre valores del 12,19% y del 29,04%, manteniéndose por tanto inferiores a los considerados por Wagner (1968) como normales.

El ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos para el modelo monocompartimental, se ha comprobado mediante la realización de un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 15). Los elevados niveles de significación obtenidos demuestran la homogeneidad de los datos experimentales, con excepción del valor obtenido para la constante de absorción (K_a). Sin embargo, podemos observar en

la Tabla 15, que este parámetro presenta un coeficiente de variación inferior al 75%, concretamente un valor de 29.04%.

Los parámetros correspondientes al análisis farmacocinético no compartimental, para cada uno de los animales, se presentan en la Tabla 16. Los parámetros que se muestran son los valores no compartimentales siguientes: la constante híbrida de disposición lenta (λ_z), la vida media ($t_{1/2Z}$), el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo 0 hasta tiempo 24 horas (AUC_{0-24h}), el área bajo el momento de la curva (AUMC), el tiempo medio de residencia (MRT), el aclaramiento (Cl) y el volumen aparente de distribución (V_z) en función del área bajo la curva y de la biodisponibilidad, la concentración máxima (C_{max}) y el tiempo necesario para conseguirla (T_{max}), así como la biodisponibilidad (F).

Las medias de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales, así como los estadísticos más relevantes aparecen en la Tabla 17. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación por debajo del 25%. Finalmente, mediante la prueba de KOLMOGOROV-SMIRNOV se comprueban unos niveles de significación elevados, lo que demuestra el ajuste a la distribución normal, excepto el valor obtenido para el tiempo máximo (T_{max}). Los valores de esta prueba se muestran en la Tabla 17.

4.3.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE DANOFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25%.

Los valores de concentración plasmática de danofloxacino obtenidos tras la administración subcutánea de una dosis de danofloxacino, en solución del polímero P407 al 25%, de 18 mg/kg de peso a cabras aparecen reflejados en la Tabla 18. En los seis animales, la concentración del fármaco sigue una evolución semejante a lo largo del tiempo, aumentando hasta aproximadamente las 1,5-2 horas tras la administración del fármaco, y descendiendo posteriormente de una manera gradual, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 24-32horas.

Las representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino obtenidas en cada animal tras su administración subcutánea se muestran en los Gráficos 16 a 21 y la de los valores medios de las concentraciones plasmáticas, a los distintos tiempos de extracción, aparece en la Gráfica 15, representados de forma semilogarítmica.

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino, junto con los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 19. Los coeficientes de variación obtenidos son inferiores al 75% indicado por Wagner, desde un valor máximo de 46,78% y un mínimo de 15,72% a los tiempos de extracción tras la administración de danofloxacino de 0,25 y 1,5 horas respectivamente.

Para confirmar la homogeneidad de estos resultados, se realizó un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, entre todos los valores de concentración plasmática de danofloxacino obtenidos en los diferentes animales, para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este test, se muestran en la Tabla 19. Como puede apreciarse los niveles de significación son muy elevados en todos los tiempos.

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

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste bicompartimental, para cada uno de los animales, se muestran en la Tabla 20. Los valores medios de dichos parámetros, así como diversos estadísticos de desviación quedan reflejados en la Tabla 21. En esta última, podemos apreciar como los valores de los coeficientes de variación obtenidos son inferiores, en cualquier caso, a los considerados por Wagner (1968) como normales, a excepción de la concentración plasmática extrapolada a tiempo 0 de la fase de disposición lenta (Cz).

Como en los casos anteriores, en función del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV se comprueba el ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos para el modelo bicompartimental en los seis animales. En la Tabla 21 se presentan los resultados de dicha prueba, apreciándose elevados niveles de significación para todos los parámetros, excepto para la concentración plasmática extrapolada a tiempo 0 de la fase de disposición lenta (C_z), la constante híbrida de disposición lenta (λ_z), la vida media ($t_{1/2Z}$) y las constantes de transferencia k_{12} y k_{21} .

El resultado del estudio farmacocinético no compartimental queda reflejado en la Tabla 22. En dicha Tabla aparecen los valores no compartimentales de la constante de híbrida de disposición lenta (λ_z), la vida media ($t_{1/2Z}$), el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo 0 hasta tiempo 24 horas (AUC0-24h), el área bajo el momento de la curva (AUMC), el tiempo medio de residencia (MRT), el aclaramiento (Cl) y el volumen aparente de distribución (V_z) en función del área bajo la curva y de la biodisponibilidad, la concentración máxima (C_{max}) y el tiempo necesario para conseguirla (T_{max}), así como la biodisponibilidad (F).

El estudio estadístico de los parámetros no compartimentales se muestra en la Tabla 23. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación bajos, sin superar el 33,83%. El correspondiente test de KOLMOGOROV-SMIRNOV se presenta en la Tabla 23, donde se demuestra el ajuste a la distribución normal, ya que en todos los parámetros se obtienen niveles de significación adecuados, excepto para la constante híbrida de disposición lenta (λ_z) y la vida media ($t_{1/2Z}$).

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

La Tabla 24 muestra los valores de concentración plasmática de danofloxacino obtenidos tras la administración subcutánea de una dosis de 18 mg/kg de peso de danofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%. En

los seis animales, a partir del primer tiempo de extracción la concentración del fármaco va aumentando hasta aproximadamente las 2 horas, y posteriormente va descendiendo de manera gradual, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 32 horas tras la administración del fármaco, a excepción de la cabra F, en la que se detectan concentraciones plasmáticas hasta las 72 horas.

Las correspondientes representaciones gráficas semilogarítmicas de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino obtenidas en cada animal tras su administración subcutánea se muestran en los Gráficos 23 a 28.

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino, junto con los estadísticos de desviación, se presentan en la Tabla 25. Entre estos estadísticos el coeficiente de variación en todos los casos es inferior al límite máximo admisible del 75% indicado por Wagner (1968), a excepción del valor de 77,25% correspondiente a las 0,25 horas de la administración. Las representaciones gráficas en forma semilogarítmica de los valores medios de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino, a los distintos tiempos de extracción se muestran en el Gráfico 22.

La homogeneidad de los datos se ha confirmado con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV entre todos los valores de concentraciones plasmáticas de enrofloxacino obtenidas en los distintos animales para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este test, se muestran en la Tabla 25. Como se puede observar, se obtienen niveles de significación muy elevados en todos los tiempos.

Al igual que en anteriores situaciones, se ha procedido al ajuste de las concentraciones plasmáticas obtenidas experimentalmente en cada uno de los animales, así como de las concentraciones medias, a modelos farmacocinéticos mono y bi y tricompartmentales, sin ponderación de los datos y con ponderación de los datos, obteniéndose mejores resultados cuando se ponderaban las concentraciones. El ajuste de las cabras A, B, C y E se hizo siguiendo un modelo bicompartimental, mientras que las cabras D y F, se ajustaron a un modelo tricompartmental, pues los AICs correspondientes mostraban resultados más favorables.

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste bicompartimental y tricompartmental, para cada uno de los animales, se presentan en las Tablas 26 y 28.

En las Tablas 27 y 29, se muestran los valores medios de los parámetros farmacocinéticos así como diversos estadísticos de desviación. Como se puede observar, los coeficientes de variación se sitúan por debajo del 75%, señalado por Wagner (1968) como normal, a excepción de la concentración (Cz) para el ajuste bicompartimental, y la concentración plasmática (C1) y la constante de disociación (K10) para el tricompartmental.

El ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos para el modelo bicompartimental y tricompartmental, se ha comprobado mediante la realización de un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tablas 27 y 29). Los niveles de significación obtenidos son muy elevados, lo que demuestra la homogeneidad de los datos experimentales.

En la Tabla 30, se muestran los parámetros correspondientes al análisis farmacocinético no compartimental, para cada uno de los animales. Al igual que en las administraciones subcutáneas anteriores, se muestran los parámetros no compartimentales siguientes: la constante híbrida de disposición lenta (λ_z), la vida media ($t_{1/2,z}$), el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo 0 hasta tiempo 24 horas (AUC_{0-24h}), el área bajo el momento de la curva (AUMC), el tiempo medio de residencia (MRT), el aclaramiento (Cl) y el volumen aparente de distribución (Vz) en función del área bajo la curva y de la biodisponibilidad, la concentración máxima (Cmax) y el tiempo necesario para conseguirla (Tmax), así como la biodisponibilidad (F).

Las medias de los valores de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales, así como los estadísticos más relevantes aparecen en la Tabla 31. Finalmente se ha realizado a dichos valores la prueba de KOLMOGOROV-SMIRNOV, y los resultados correspondientes aparecen en la Tabla 31. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación dentro de los niveles considerados adecuados por Wagner (1968). Los niveles de significación obtenidos tras la realización de la prueba de KOLMOGOROV-SMIRNOV son elevados.

4.5.- COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE DANOFLOXACINO, TRAS SU ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA, SUBCUTÁNEA, SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% Y SUBCUTÁNEA EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2%.

Los valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos, compartimentales y no compartimentales, de danofloxacino tras la administración intravenosa de una dosis de 6 mg/kg de peso de danofloxacino vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y de 18 mg/kg de peso de danofloxacino vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2) aparecen reflejados en la Tabla 32.

La representación gráfica en forma semilogarítmica de los valores medios (media \pm SD) experimentales de concentración obtenidos a los distintos tiempos de extracción tras la administración de danofloxacino por las vías IV, SC, SC1 y SC2, aparece en el Gráfico 29.

Se ha querido representar gráficamente los valores medios (media \pm SD) experimentales de concentración obtenidos a los distintos tiempos de extracción tras la administración de danofloxacino por las vías extravasculares: SC, SC1 y SC2, de forma semilogarítmica (Gráfico 30)

Para verificar la existencia de diferencias significativas entre las administraciones de enrofloxacino vía IV, SC, SC1 y SC2, se ha realizado un estudio estadístico paramétrico (t de Student) y no paramétrico (Wilcoxon) a los parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el análisis compartimental y no compartimental. Los resultados de este estudio se muestran en la Tabla 33.

Al comparar las vías de administración IV y SC, se observa la existencia de diferencias significativas entre diversos parámetros farmacocinéticos. Así, existen

diferencias estadísticamente significativas entre el área bajo el momento de la curva (AUMC) y el tiempo medio de residencia (MRT).

La comparación de las vías IV y SC1 pone de manifiesto la existencia de diferencias significativas entre el área bajo el momento de la curva (AUMC) y el tiempo medio de residencia (MRT). La comparación de las vías IV y SC2, pone de manifiesto la existencia de diferencias significativas entre el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo 0 hasta tiempo 24 horas (AUC0-24h), el área bajo el momento de la curva (AUMC) y el tiempo medio de residencia (MRT).

También se ha realizado la comparación entre las tres administraciones por vía extravascular: SC, SC1 y SC2. Como se puede observar, en la Tabla 33, existen diferencias significativas ($P < 0,05$) para los siguientes parámetros farmacocinéticos:

- Comparación entre las vías SC y SC1: el área bajo el momento de la curva (AUMC) y el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$).
- Comparación entre las vías SC y SC2: existen diferencias significativas entre el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo 0 hasta tiempo 24 horas (AUC0-24h), el área bajo el momento de la curva (AUMC), el tiempo medio de residencia (MRT), la concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y la biodisponibilidad (F).
- Comparación entre las vías SC1 y SC2: la constante híbrida de disposición lenta (λ_z), la vida media ($t_{1/2\lambda_z}$), el tiempo medio de residencia (MRT), la concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y el tiempo necesario para alcanzar dicha concentración ($T_{m\acute{a}x}$).

4.6.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS FARMACODINÁMICOS OBTENIDOS FRENTE A CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS.

En la Tabla 34 se muestran las concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/mL}$) de danofloxacino obtenidas frente a 32 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de la leche de cabras lactantes con infecciones intramamarias.

Como ya se ha mencionado en la revisión bibliográfica, entre los parámetros farmacocinético–farmacodinámicos (PK-PD) que predicen una mejor eficacia y una menor aparición de resistencias se encuentran el AUC/CMI y $C_{\text{máx}}/CMI$. Estos parámetros calculados para cada animal, vía subcutánea a una dosis de 6 mg/kg de danofloxacino, y vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% de una dosis de 18 mg/kg de danofloxacino y a 4 niveles de sensibilidad a danofloxacino, de los aislados de *Staphylococcus aureus* en cabra, se muestran en la Tabla 35. Además, se muestran los valores de las ratios de danofloxacino corregidos a una dosis de 6 mg/kg en el caso de las dos administraciones con polímero.

Finalmente, en la Tabla 36 se ponen de manifiesto la media y la desviación estándar de dichos parámetros farmacocinético-farmacodinámicos.

5.- DISCUSIÓN

5.1.- ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE DANOFLOXACINO EN CABRAS.

5.1.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.

La evolución de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino a una dosis de 6 mg/kg en cabras, se ha ajustado a los modelos farmacocinéticos mono- y bicompartimentales con y sin ponderación de los datos experimentales obtenidos para cada animal y para sus correspondientes concentraciones medias.

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

Teniendo en cuenta los valores más favorables de AIC (menores), se ha comprobado que la evolución de las concentraciones plasmáticas en todos los animales así como para las concentraciones medias, se ajustan a un modelo bicompartimental sin ponderación. Así pues, se puede concluir que las concentraciones plasmáticas experimentales obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 6 mg/kg de danofloxacino en cabras, se ajustan mejor a un modelo bicompartimental abierto.

Para verificar la bondad del ajuste a un modelo bicompartimental abierto, se calcularon las concentraciones teóricas correspondientes a cada animal y las concentraciones teóricas medias a los mismos tiempos utilizados en la fase experimental, utilizando las ecuaciones correspondientes, y se ha procedido a realizar un análisis de regresión entre éstas y sus correspondientes experimentales. Los resultados de dicho estudio aparecen en la Tabla 9, en la que se comprueba que no existen diferencias significativas entre las mismas ($p > 0,001$), por lo que las concentraciones teóricas son plenamente representativas del proceso y el ajuste obtenido es totalmente válido.

El modelo bicompartimental está de acuerdo con las características farmacocinéticas de las fluoroquinolonas, que presentan una buena distribución orgánica con una importante penetración a nivel intracelular (Brown, 1996). Varios

estudios de administración intravenosa de danofloxacino en cabras también obtienen un mejor ajuste del fármaco al modelo bicompartimental (Escudero y cols. 2007; Ismail y cols. 2006; Aliabadi y Lees. 2001). Otros estudios realizados tras la administración intravenosa de danofloxacino en distintas especies animales, también ajustan a un modelo bicompartimental: ovejas (Escudero y cols. 2007), bovino (Mann y Frame, 1992), conejos (Fernández-Varón y cols., 2007) y caballos (Fernández-Varón y cols., 2006a).

El ajuste al modelo bicompartimental se ha obtenido en otros estudios tras la administración intravenosa de otras fluoroquinolonas a cabras: moxifloxacino (Fernández-Varón y cols., 2006b), danofloxacino (AliAbadi y Lees, 2001), marbofloxacino (Waxman y cols., 2001) y pefloxacino (Abd El-Aty y Goudah, 2002).

El modelo bicompartimental abierto fue introducido por T. Teorell en 1937 y posteriormente divulgado por J. Loo y S.Riegelman (1968). Este modelo intenta reflejar el hecho de que la distribución del fármaco en el organismo no es un proceso instantáneo. Se caracteriza por considerar al organismo compuesto por dos compartimentos, uno central correspondiente a los tejidos en los que se alcanza un rápido equilibrio en la distribución del fármaco (puede considerarse instantánea) y uno periférico que corresponde a los tejidos en los que el equilibrio en la distribución precisa un tiempo más o menos dilatado para alcanzarse (Doménech y cols., 1997). Dependiendo de que el proceso de eliminación se produzca desde el compartimento central, o desde el compartimento periférico, se obtendrán distintos modelos posibles. En nuestro caso hemos considerado que la eliminación se produce desde el compartimento central.

El modelo bicompartimental abierto tras una dosis intravenosa, viene definido por la siguiente ecuación:

$$C = C_1 \cdot e^{-\lambda_1 t} + C_2 \cdot e^{-\lambda_2 t} \quad (1)$$

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 danofloxacino en la cabra, se deben llevar a cabo estudios estadísticos que permitan calcular los valores medios para cada uno de los parámetros que intervienen en la misma.

De este modo, los estadísticos correspondientes a los parámetros farmacocinéticos, deducidos a partir de las concentraciones plasmáticas experimentales, así como los resultados del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, se muestran en la Tablas 4.

Por consiguiente, la ecuación que define la evolución de las concentraciones plasmáticas experimentales, en la cabra tras la administración intravenosa, de una dosis única de 6 mg/kg de danofloxacino, adquiere el siguiente valor:

$$C = 4775,98 \cdot e^{-2.71 t} + 1374,26 \cdot e^{-0.2958 t} \quad \mu\text{g/L} \quad (2)$$

La representación directa de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 6), pone de manifiesto que los niveles de danofloxacino descienden rápidamente en la fase inicial (primeros 90 minutos) y, a partir de este momento disminuyen de forma más paulatina, dando lugar a una segunda fase, que podría considerarse monoexponencial y que se mantiene hasta el final del proceso (hasta las 24 horas tras la administración).

Este hecho se aprecia más claramente al observar la representación semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 1), 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 danofloxacino del plasma de cabra, 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_2), 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 danofloxacino del plasma en cabras, 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 danofloxacino en plasma hasta las 24 horas.

5.1.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

A continuación se van a comentar los parámetros farmacocinéticos más representativos del danofloxacino tras su administración intravenosa a cabras. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental para cada uno de los animales se muestran en las Tablas 4 y 5 (modelo bicompartimental). En las tablas 10 y 11, aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales del fármaco referentes a cada animal.

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 danofloxacino han sido de $2,71 \text{ h}^{-1}$ y $0,2958 \text{ h}^{-1}$ para λ_1 y λ_z , respectivamente. Valores similares fueron obtenidos en un estudio realizado con ibafloxacino en cabras, concretamente 2 h^{-1} y $0,19 \text{ h}^{-1}$ para λ_1 y λ_z , respectivamente (Marín y cols., 2007c).

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 se ha mostrado elevada, con un valor de 7.92, indicativo de la diferencia existente entre ambas fases (Tabla 6). Este valor indica que la distribución del danofloxacino es claramente bicompartimental y que es la constante λ_z la que controla principalmente los procesos anteriormente citados, ya que los regula durante más tiempo.

Los estudios realizados con danofloxacino administrado intravenosamente en cabras, describen valores de estas constantes inferiores a los obtenidos en nuestro estudio, así Aliabady y Lee (2001) obtuvieron unos valores para las mismas de $1,46 \text{ h}^{-1}$ para λ_1 y $0,16 \text{ h}^{-1}$ para λ_z .

En la cabra, para otras fluoroquinolonas también se han obtenido valores de estas constantes. Para marbofloxacino, Waxman y cols. (2001), obtienen valores de $0,49 \text{ h}^{-1}$ y de $0,097 \text{ h}^{-1}$ para λ_1 y λ_z , respectivamente mientras que Fernández-Varón y cols. (2006b) reportan valores para moxifloxacino de λ_1 y λ_z de $7,18 \text{ h}^{-1}$ y $0,41 \text{ h}^{-1}$. Con pefloxacino (Abd El-Aty y Guadah., 2002) se obtienen valores similares a los de Fernández-Varón y cols. (2006b), concretamente de $6,93 \text{ h}^{-1}$ y $0,43 \text{ h}^{-1}$ para λ_1 y λ_z . Para otras quinolonas se han obtenido los siguientes valores de λ_1 y λ_z de $0,92 \text{ h}^{-1}$ y $0,14 \text{ h}^{-1}$ para difloxacino y $0,63 \text{ h}^{-1}$ y $0,08 \text{ h}^{-1}$ para enrofloxacino, respectivamente (Marín y cols., 2007a; Titos, 2010).

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 entre los dos compartimentos, central y periférico, y el de eliminación desde el central:

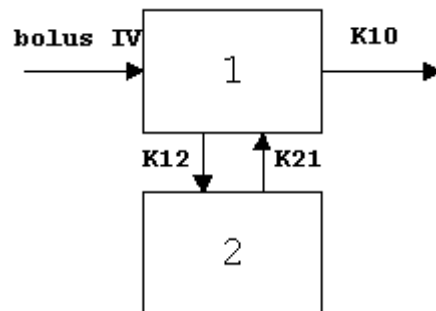


Figura 1.- Representación esquemática del modelo bicompartimental tras la administración intravenosa de un fármaco.

En este modelo, el fármaco se distribuye instantáneamente en el 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 danofloxacino en la cabra, son $k_{12} = 1,2 \text{ h}^{-1}$, $k_{21} = 1,02 \text{ h}^{-1}$ y $k_{10} = 178,61 \text{ h}^{-1}$ (Tabla 4). La misma tabla 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 hace que el fármaco tenga poca capacidad para acumularse o retenerse en el compartimento periférico.

Si observamos estas constantes podemos establecer relaciones de interés que se muestran en las Tablas 5 y 6.

La relación λ_z/k_{10} , alcanza un valor de 0,30, y señala una eliminación global del antibiótico 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 del danofloxacino a un modelo bicompartimental.

Del estudio de la relación k_{12}/k_{10} , se obtiene un valor de 1,09. Como se puede observar, este valor próximo o poco mayor de 1 nos indica una velocidad de eliminación del fármaco del plasma, por metabolismo y excreción, prácticamente similar a la de distribución del mismo. Que la velocidad de eliminación del fármaco sea similar a la de distribución, no quiere decir que el fármaco no se comporte como bicompartimental, sino que el tránsito del mismo por el compartimento periférico va a ser relativamente rápido, es decir, no quedará muy retenido en él, como ocurre con otras fluoroquinolonas en la misma especie, por ejemplo, el enrofloxacino en este caso tiene una relación de 0,12 (Titos, 2010).

Si estudiamos la relación entre la constante de transferencia y retorno, desde el compartimento periférico k_{12}/k_{21} , esta adquiere el valor de 1,07. Este resultado indica que el fármaco accede al compartimento periférico pero retorna fácilmente del mismo al compartimento central, sin producirse retención del fármaco en dicho compartimento periférico.

Del análisis de la relación k_{21}/k_{10} , se obtiene un valor de 1,02 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 danofloxacino en el compartimento periférico.

En un estudio realizado con danofloxacino en cabras (Atef y cols., 2001), se obtuvieron valores inferiores de estas microconstantes, predominando la constante de retorno desde el compartimento periférico al central (k_{21}). Concretamente los valores obtenidos fueron de: $k_{12} = 0,49 \text{ h}^{-1}$, $k_{21} = 10,74 \text{ h}^{-1}$. En otros estudios realizados en cabras no se detallan valores de microconstantes.

5.1.2.3.- TIEMPOS DE VIDA MEDIA Y TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA.

El tiempo de vida media de la fase de disposición rápida ($t_{1/2\lambda_1}$) para danofloxacino, ha sido de 0,64 horas, y el tiempo de vida media de la fase de disposición lenta ($t_{1/2\lambda_2}$), considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982) se estima en 2,97 horas (Tabla 4).

El valor del tiempo de vida media de la fase de disposición rápida de nuestro estudio es prácticamente igual al obtenido para el enrofloxacino en cabras (0,62 h; Elmas y cols., 2001). También se asemeja al obtenido para difloxacino (0,76 h; Marín y cols., 2007a).

El tiempo de vida media ($t_{1/2\lambda_2}$) obtenido en nuestro estudio es en general inferior al obtenido en estudios similares encontrados en cabras. Un estudio realizado en igualdad de condiciones que el nuestro, en cuanto a dosis y vía de administración, obtuvo un valor de 5,46 h (Escudero y cols., 2007). Atef y cols. (2001), tras la administración de una dosis de 1,25 mg/kg de peso, reportaron valores de 1,35 h. Otro estudio realizado por Ismail y cols. (2006) obtuvo un valor de semivida de 6,54 h. En un estudio realizado por Aliabadi y Lees. (2001), el valor de $t_{1/2\lambda_2}$ fue de 4,67 h.

Comparando con otras especies animales, el $t_{1/2\lambda_2}$ del presente estudio, es igual al obtenido cuando se administró danofloxacino en bovino (2,9 h) a una dosis de 5 mg/kg (Mann y Frame, 1992). En terneros a dosis de 1.25mg/kg muestran valores de 2,65 h, en ovejas a la misma dosis que este estudio, 3,07 h (Escudero y cols., 2007) y en Patos 3,91 h con 5 mg/kg (Goudah y Mouneir, 2009).

Respecto a otras fluoroquinolonas en cabras, se han registrado valores de $t_{1/2\lambda_2}$ inferiores a los hallados en nuestro estudio para moxifloxacino (1,94 h; Fernández-Varón y cols., 2006b), para pefloxacino (1,6 h; Abd El-Aty y Goudah, 2002), para ciprofloxacino (2,7 h; El-Banna y Abo El-Sooud, 1998) y superiores en el caso de ibafloxacino (3,76 h; Marín y cols., 2007c), para orbifloxacino (4,12 h; Marín y cols., 2007d), para difloxacino (6,3 h y 4,92 h; Atef y cols., 2001; Marín y cols., 2007a), y para marbofloxacino (7,1 h; Waxman y cols., 2001). También se han encontrado valores

de tiempo de vida media muy superiores a los de nuestro estudio, como ocurre con el ofloxacino, cuyo tiempo de vida media es de 15,55 h (Baruah y cols., 2004).

El análisis farmacocinético no compartimental permite calcular el denominado momento 1 o tiempo medio de residencia (MRT). Este parámetro es independiente del modelo farmacocinético elegido y tiene un significado análogo al $t_{1/2\lambda_z}$ que se halla en los modelos compartimentales. El MRT, se obtiene directamente de la curva experimental y puede considerarse como una variable estadística aleatoria. El $t_{1/2\lambda_z}$ por el contrario, es un parámetro obtenido a partir de la ecuación de ajuste.

En el presente estudio se ha obtenido un valor de MRT de 2,18 horas (Tabla 11). Este resultado es similar al obtenido tras la administración de danofloxacino en cabras (2,47 h, Escudero y cols., 2007), y superior al obtenido por Atef (2001) en cabras con un valor de 1,7 horas. Otros estudios en cabras dan como resultado valores superiores, 4,2 h (Ismail y cols., 2006) y 5,33 h tras la administración de 1,25 mg/kg de danofloxacino (Aliabadi y Lees., 2001).

El resultado obtenido en nuestro estudio también es comparable con el obtenido en ovejas (2,77 h, Escudero y cols., 2007) y en terneros, este último a dosis de 1.25 mg/kg (3,20 h, Aliabadi y Lees, 2003). Valores superiores se obtuvieron en conejos (4,14 h, Fernández- Varón, 2007), patos (4,18 h, Goudah y Mouneir, 2009) a dosis de 5 mg/kg, camellos (5,82 h, Aliabadi y cols., 2003a), pollos (7,25 h, Knoll y cols., 1999) a dosis de 5 mg/kg y caballos (6,17 h, Fernández-Varón y cols., 2006a). Los valores más elevados de MRT se hallaron en tortugas (9,58 h, Marín y cols., 2008) y en pavos (11,01 h, Haritova y cols., 2006) cuando se administró danofloxacino subcutáneo a la misma dosis que el presente estudio.

También se han encontrado resultados inferiores en vacas a dosis de 1.25mg/kg (Shem-Tov y cols., 1998).

En cuanto a otras fluoroquinolonas estudiadas en cabras, se han obtenido los siguientes valores de MRT: similares a orbifloxacino (2,75 h, Marín y cols., 2007d, dosis de 2,5 mg/kg), superiores para enrofloxacino (3,47 h, Titos, 2010) y ofloxacino (22,47 h, Baruah y cols., 2004), e inferiores para pefloxacino (1,07 h, Abd El-Aty y

Goudah, 2002), ibafloxacin (1,50 h, Marín y cols., 2007c; dosis de 15 mg/kg) y moxifloxacin (1,81 h, Fernández-Varón y cols., 2006b).

5.1.2.4.- VOLÚMENES DE DISTRIBUCIÓN APARENTE.

El volumen de distribución aparente de danofloxacin calculado en función del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (V_z) en cabra, alcanza un valor de 3,01 L/kg, en tanto que el volumen de distribución en estado estacionario (V_{ss}) adquiere un valor de 1,61 L/kg, obtenidos por el método no compartimental (Tabla 11). 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.

Similares valores en V_{ss} se obtuvieron en cabras tras la administración de 1,25 mg/kg de danofloxacin, concretamente 1,41 L/kg (Ataf y cols., 2001). Sin embargo, en el estudio realizado por Aliabadi y Lees (2001), obtuvieron valores superiores a los indicados en el nuestro: 3,02 L/kg y 4,61 L/kg para V_{ss} y V_z , respectivamente. Al igual que Escudero y cols. (2007), tras la administración de una dosis de 6 mg/kg, es de 7,81 y 2,44 L/kg, respectivamente.

Otros estudios realizados con danofloxacin en ovejas también han descrito valores de V_z similares, siendo de 3,82 L/kg tras la administración de la misma dosis

que nuestro estudio (Escudero y cols., 2007) y aproximadamente de 3,37 L/kg a dosis de 1,25 mg/kg (Aliabadi y cols., 2003b). En cambio se han obtenido valores superiores en pollos a dosis de 5 mg/kg (13,7 L/kg, Knoll y cols., 1999) e inferiores en tortugas a dosis de 6 mg/kg (2,41 L/kg, Marín y cols., 2008).

Estudios de otras fluoroquinolonas en cabras han señalado valores de V_z inferiores para moxifloxacino (1,44 L/kg, Fernández-Varón y cols., 2006b) y superiores para ibafloxacino (5,86 L/kg, Marín y cols., 2007c). Importante es resaltar que el ibafloxacino fue administrado, a cabras, a una dosis de 15 mg/kg.

En relación al volumen de distribución en el estado estacionario (V_{ss}), se han señalado valores similares a los presentados en nuestro estudio para diferentes especies animales, siendo muy parecida al valor encontrado para caballos (2 L/Kg, Fernández-Varón y cols., 2006a), y al obtenido en ovejas y ganado bovino a dosis de 1,25 mg/kg (1,9 L/kg, Shem-Tov y cols., 1997; 2,04 L/kg, Shem-Tov y cols., 1998). A dosis de 6 mg/kg se han obtenido datos superiores en ovejas (2,19 L/kg y Escudero y cols., 2007), pavos (6,59 L/kg y Haritova y cols., 2006) y conejos (3,16 L/kg y Fernández-Varón y cols., 2007), y valores inferiores en el caso de tortugas (1,02 L/kg, Marín y cols., 2008). Los mayores valores de V_{ss} corresponden al grupo de las aves, desde un valor mínimo de 5,41 hasta el máximo de 10,2 L/kg, en patos, pavos y pollos (Goudah y Mouneir., 2009, Haritova y cols., 2006 y Knoll y cols., 1999).

Respecto a otras fluoroquinolonas en cabras, Fernández-Varón y cols. (2006b), obtuvieron valores inferiores de V_{ss} (0,79 L/kg) para moxifloxacino que el hallado en nuestro estudio, al igual que en el estudio de Marín y cols. (2007d) que obtuvo un valor de 1,13 L/kg para el orbifloxacino, 1,16 L/kg para difloxacino (Marín y cols., 2007a), y 1,31 L/kg para el marbofloxacino (Waxman y cols., 2001). Los valores de V_{ss} reportados para el resto de fluoroquinolonas estudiadas han sido prácticamente igual con un valor de 1,65 L/kg para ibafloxacino (Marín y cols., 2007c), y superiores con valores de 2,14 L/kg para el ciprofloxacino (El-Banna y Abo El-Sooud, 1998), 2,85 L/kg para el ofloxacino (Baruah y cols., 2004), y 5,14 L/kg para el pefloxacino (Abd El-Aty y Goudah, 2002). Todos estos valores demuestran que las quinolonas se distribuyen ampliamente en tejidos

En cuanto al volumen de distribución aparente en el compartimento central (V_c), adquiere un valor de 1,02 L/kg (Tabla 11). El valor del V_c , supone algo más del 60% del V_{ss} , lo que está de acuerdo con las microconstantes obtenidas, siendo el compartimento central mayor que el periférico ($V_c > V_p$).

Si observamos los volúmenes de distribución aparentes calculados, podemos constatar que $V_z (3,01) > V_{ss} (1,61) > V_c (1,02)$, lo cual según Wagner, (1983), debe cumplirse siempre.

5.1.2.5.- ÁREA BAJO LA CURVA.

El área bajo la curva de nivel plasmático (AUC), es un parámetro que permite calcular el aclaramiento plasmático y la biodisponibilidad del fármaco tras su administración extravascular. Se calcula integrando, entre tiempo cero e infinito, la curva de concentración plasmática-tiempo, y puede hacerse tanto por análisis compartimental (a partir de la ecuación general del proceso) o por análisis no compartimental (métodos trapezoidal o logarítmico trapezoidal, a partir de la curva experimental) como en este caso.

El valor de AUC obtenido para danofloxacino en cabras es de 8,16 mg·h/L (Tabla 11). Este valor es algo superior al presentado en un estudio realizado en cabras por Escudero y cols. (2007) en las mismas condiciones de administración, de 6,08 mg·h/L. En conejos, ovejas y cerdos se obtuvo un valor parecido de AUC, concretamente de 8, 7,58 y 7,9 mg·h/L, siendo éste último a una dosis de 5 mg/kg. (Fernández-Varón y cols., 2007, Escudero y cols., 2007 y Mann y Frame, 1992).

Otros estudios realizados en cabras con danofloxacino a dosis de 1,25 mg/kg obtuvieron valores de AUC de aproximadamente 2 mg·h/L (Atef y cols., 2001, Ismail y cols., 2006 y Aliabadi y Lees, 2001). Un estudio realizado en cabras infectadas obtuvo un AUC superior (de 4,26 mg·h/L), a la dosis previamente comentada. Estudios realizados en ovejas en las mismas condiciones, obtienen resultados parecidos. (Shem-Tov y cols., 1997, Aliabadi y cols., 2003b y Mckellar y cols., 1998).

Se han obtenido valores de AUC inferiores en caballos (3,8 mg·h/L; Fernández-Varón y cols., 2006a) y camellos (2,86 mg·h/L; Aliabadi y cols., 2003a) a dosis de 1,25

mg/kg, patos (5,53 mg·h/L; Goudah y Mounier, 2009) y pollos (3,55 mg·h/L; Knoll y cols., 1999) a dosis de 5 mg/kg. También se han observado valores superiores en pavos (10,77 mg·h/L; Haritova y cols., 2006) y muy superiores en tortugas a las mismas dosis que nuestro estudio (56,54 mg·h/L; Marín y cols., 2008).

En la cabra, con otras fluoroquinolonas, se han obtenido resultados inferiores de AUC para pefloxacino (aproximadamente 3 veces; Abd El-Aty y Goudah, 2002) y orbifloxacino (1,3 veces; Marín y cols., 2007d). Para el resto de las quinolonas se han obtenido valores mayores, como el enrofloxacino (2,6 veces; Elmas y cols., 2001), el difloxacino (2 veces; Marín y cols., 2007b), el ibafloxacino (1,9 veces; Marín y cols., 2007c) y el moxifloxacino (1,4 veces; Fernández-Varón y cols., 2006b). Las dosis utilizadas fueron de 5 mg/kg para difloxacino, moxifloxacino y ciprofloxacino, de 2,5 mg/kg en el caso de orbifloxacino, de 10 mg/kg para pefloxacino y de 15 mg/kg para ibafloxacino.

5.1.2.6.- ACLARAMIENTO PLASMÁTICO.

El aclaramiento plasmático (Cl) puede calcularse a partir de las curvas de niveles plasmáticos, recurriendo a métodos modelo-dependientes, basados en los modelos compartimentales y fisiológicos, o utilizando métodos modelo-independientes basados en la estimación del AUC (Doménech y cols., 1997). En nuestro estudio, se ha calculado el Cl en función del área bajo la curva mediante análisis no compartimental. El valor obtenido ha sido de 0,75 L/kg·h (Tabla 11).

Dicho valor también fue hallado por Escudero y cols., (2007) en cabras, bajo las mismas condiciones de dosificación (0,79 L/kg·h). Los estudios realizados a dosis de 1,25 mg/kg obtuvieron cifras menores de Cl, aproximadamente 0,5 L/kg·h (Atef y cols., 2001, Ismail y cols., 2006 y Aliabadi y Lees, 2001).

En ovejas, también se han descrito valores similares: 0,79 L/kg·h a dosis de 6 mg/kg (Escudero y cols., 2007) y valores de Cl de 0,71, 0,67 y 0,63 L/kg·h a dosis de 1,25 mg/kg (Aliabadi y cols., 2003b, Shem-Tov y cols., 1997 y McKellar y cols., 1998).

En otros animales se han descrito valores similares: 0,76 L/kg·h en conejos (Fernández-Varón y cols., 2007) y 0,71 en búfalos (Sappal y cols., 2009).

Se han reportado cifras de Cl superiores en pollos (1,41 L/kg-h, Knoll y cols., 1999) y patos (Goudah y Mouneir, 2009) a dosis de 5 mg/kg. Valores inferiores se obtuvieron en pavos (0,59 L/kg-h, Haritova y cols., 2006), tortugas (0,11 L/kg-h, Marín y cols., 2008) y terneros (0,55 y 0,48 L/kg-h, Friis, 1993) a dosis de 1,25 mg/kg; y en caballos (0,34 L/kg-h, Fernández-Varón y cols., 2006a) y camellos (0,44 L/kg-h, Aliabadi y cols., 2003a) a dosis de 6 mg/kg de peso.

Waxman y cols. (2001), obtuvieron un valor inferior al de nuestro estudio (0,24 L/kg.h) para marbofloxacino en cabras cuando se les administró una dosis de 2,5 mg/kg. Estudios con otras fluoroquinolonas en cabras señalan valores superiores de aclaramiento para el pefloxacino (3,6 L/kg-h; Abd El-Aty y Goudah, 2002), el ibafloxacino (1,05 L/kg-h; Marín y cols., 2007c), el ciprofloxacino (0,88 L/kg-h; El Banna y Abo El-Sooud, 1998), y menor en el caso de el difloxacino (0,32 L/kg-h; Marín y cols., 2007b) y de 0,14 L/kg-h, para el ofloxacino (Baruah y cols., 2004).

5.2.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE DANOFLOXACINO EN CABRAS.

5.2.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.

La evolución de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino, tras la administración subcutánea de 6 mg/kg en cabras, se ha ajustado, igual que en la administración intravenosa, a modelos mono y bicompartimentales con y sin ponderación de los datos experimentales.

En todos los animales estudiados y en las concentraciones medias, el valor de AIC indica un mejor ajuste a un modelo monocompartimental. Así, la evolución de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino, tras su administración subcutánea, sigue un modelo farmacocinético monocompartimental abierto con absorción de primer orden.

En la literatura no existen estudios compartimentales en cabras tras la administración de danofloxacino vía subcutánea. El único estudio encontrado realiza un análisis no compartimental de las concentraciones plasmáticas (Escudero y cols., 2007).

El modelo monocompartimental hallado en nuestro estudio se ha obtenido tras la administración subcutánea a cabras de otras fluoroquinolonas. Tal es el caso de moxifloxacino (Fernández- Varón y cols., 2006b).

El estudio de Fernández-Varón realizado en conejos con danofloxacino administrado subcutáneamente ha dado como resultado un ajuste a un modelo monocompartimental (Fernández-Varón y cols., 2007). Otros estudios en otras especies animales han realizado análisis no compartimentales.

Cuando se administra un fármaco por vía extravascular (oral, intramuscular, subcutánea, transdérmica, etc.) el modelo monocompartimental puede esquematizarse como se indica en la figura 3, en la cual hay una primera fase de absorción, seguida de una distribución por el organismo y una fase de eliminación:

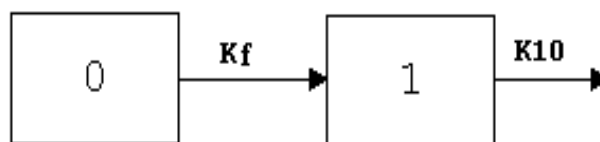


Figura 3.- Representación esquemática del modelo monocompartimental tras la administración extravascular de un fármaco.

La ecuación para este modelo viene dada por la siguiente ecuación:

$$C = C_z \cdot e^{-\lambda_z t} - C_a \cdot e^{-\lambda_a t}$$

Dicha ecuación adquiere valores distintos en cada animal, que se muestran en la Tabla 14. Los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 15. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación, junto con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (Tabla 15), revelan que los parámetros son homogéneos y no existen diferencias significativas para un mismo parámetro.

Por tanto, la ecuación que describe la evolución de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino, tras su administración subcutánea, obtenida con los parámetros medios, adopta el siguiente valor:

$$C = 5,04 \cdot e^{-0,47t} + 66273,61 \cdot e^{-0,5517t} \text{ mg/L (3)}$$

La representación directa de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 8), pone de manifiesto que los niveles de danofloxacino aumentan rápidamente durante la primera fase de absorción del fármaco (primeras 4 horas), alcanzando su máximo alrededor de las 2 horas, para descender en la fase posterior, hasta las 24 horas aproximadamente. y, a partir de este momento disminuyen de forma más lenta, que podría considerarse monoexponencial y que se mantiene hasta el final del proceso (hasta las 24 horas tras la administración). Los gráficos siguientes (9-14) confirman el modelo farmacocinético tras la administración subcutánea del fármaco para cada animal.

La ecuación 3 resulta válida para definir la evolución temporal de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino en cabras, tras su administración subcutánea. Sin embargo, esta ecuación no es válida, para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos que caracterizan la evolución del enrofloxacino en la cabra, ya que estos últimos vienen definidos por el estudio tras la administración intravenosa. Sin embargo, vamos a comentar algunos parámetros obtenidos de esta última ecuación, ya que pueden dar una información interesante.

5.2.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental del danofloxacino, se muestran en las Tablas 14 y 15. En las Tablas 16 y 17 aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales. Todos los parámetros van referidos a cada animal y a sus concentraciones medias. Pasamos a continuación a comentar los parámetros farmacocinéticos más representativos del danofloxacino tras su administración subcutánea a cabras.

5.2.2.1.- TIEMPO DE VIDA MEDIA (MRT y MAT)

En todo caso, sí se ha de considerar el tiempo de vida media de la fase terminal ($t_{1/2 \lambda_z}$), que es el único parámetro que nos proporciona un dato utilizable y que puede ser comparado con los obtenidos tras la administración intravenosa. El valor obtenido ha sido de 1,5 horas (Tabla 15). Este valor resulta casi dos veces menor al obtenido por la vía intravenosa, que es de 2.97 horas (Tabla 4). Esto puede ser indicativo de que el proceso de absorción puede convertirse en un factor limitante de la eliminación.

Una posible justificación a los datos obtenidos vendría dada si tenemos en cuenta el límite de detección del aparato, establecido previamente en 5 $\mu\text{g/L}$. Concentraciones inferiores a dicho valor, no son contabilizadas, asumiendo que el fármaco permanece menos tiempo en el organismo y obteniendo, por tanto, un valor estimado de la semivida de eliminación menor a la real. En el caso de la administración subcutánea, el proceso de absorción conlleva a concentraciones máximas menores que la administración intravenosa, quedando de forma prematura fuera del rango de cuantificación y acortando de forma más marcada el valor de este parámetro.

En el único estudio realizado con danofloxacino por vía subcutánea en cabras, se obtuvo un valor de $t_{1/2 \lambda_z}$ de 4.03 h, mucho mayor al reportado en nuestro estudio (Escudero y cols., 2007).

También se han encontrado valores mayores en otras especies de: 3.07 h en ovejas (Escudero y cols., 2007), 8.2 h en conejos (Fernández-Varón y cols., 2007), 12.53 h en vacas (Mestorino y cols., 2009), y 18.72 h en tortugas (Marín y cols, 2008). A dosis de 5 mg/kg de peso en vacas, se obtuvo un valor de 4.3 h (Mann y Frame, 1992).

Respecto a otras fluoroquinolonas en cabras, también se han registrado vidas medias superiores a los hallados en nuestro estudio; con moxifloxacino (2,98 h; Fernández-Varón y cols., 2006b), enrofloxacino (2,84 h; Ramesh y MaliK, 2002), orbifloxacino (4,99 h; Marín y cols., 2007d), difloxacino (7,33 h; Marín y cols., 2007b).

Solo enrofloxacino fue administrado a una dosis superior (7,5 mg/kg), en tanto que moxifloxacino, difloxacino y orbifloxacino fueron administrados a una dosis menor (de 5 mg/kg para los dos primeros y 2.5 mg/kg para el último)

El MRT presenta un valor de 4.39 h (Tabla 17). Éste parámetro es 2 veces mayor que el descrito tras la administración intravenosa (Tabla 11).

En cabras se han encontrado valores de MRT similares a los hallados en nuestro estudio, concretamente de 4,51 h (Escudero y cols., 2007) a la misma dosis de administración. Valores aproximados se obtuvieron también en ovejas (4,93 h; Escudero y cols., 2007), en conejos (4,72 h ; Fernández-Varón, 2007) y en terneros (4,689 h; Mckellar y cols., 1999). Si bien, la dosis en éstos últimos fue de 1.25mg/kg de peso.

Otros estudios realizados con danofloxacino en diferentes animales han reportado valores de MRT superiores, en el caso de tortugas y ganado vacuno: 9,33 y 18,38 h, respectivamente (Marín y cols., 2008; Mestorino y cols., 2009). A todos los animales se les administró una dosis de 6 mg/kg de enrofloxacino.

En la cabra, se han obtenido valores superiores para moxifloxacino (6,15 h ; Fernández-Varón y cols., 2006b), enrofloxacino (6,06 h, Titos, 2010; 5,74 h, Ramesh y cols., 2002), difloxacino (7,26 h, Marín y cols., 2007a), marbofloxacino (5,44 h; Waxman y cols., 2001) y valores inferiores para orbifloxacino (3,58 h; Marín y cols., 2007d) y el pefloxacino (2,12 h; Abd El-Aty y Goudah, 2002). Las dosis utilizadas para algunas fluoroquinolonas fueron distintas a las utilizadas en nuestro estudio. Así, en el caso de moxifloxacino y difloxacino se administró una dosis de 5 mg/kg de peso, para marbofloxacino y orbifloxacino se administró una dosis de 2,5 mg/kg, para enrofloxacino 5 y 7,5 mg/kg, y finalmente, para pefloxacino 10 mg/kg.

En las Tablas 16 y 17, se presentan los valores correspondientes al MRT y el tiempo medio de absorción (MAT) subcutáneos; en tanto que el MRT intravenoso aparece en las Tablas 10 y 11. A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar como en tres cabras, el valor de MAT es superior al del MRT intravenoso y viceversa. Si se consideran los valores medios obtenidos, resulta que el MRT intravenoso (2,18 h) resulta ser similar al

MAT subcutáneo (2,21 h). De ello se concluye que, es posible que la absorción, tras la administración subcutánea de danofloxacino, esté condicionando su eliminación.

En cabras, se han encontrado valores similares de MAT ((2,01 h, Escudero y cols., 2007) a la misma dosis de administración.

En cuanto a otros animales, los datos son escasos. Se han señalado valores muy inferiores a los hallados en nuestro estudio, concretamente en tortugas y conejos, con 0,75 h y 0,59 h respectivamente (Marín y cols., 2008; Fernández-Varón y cols., 2007).

En todos los estudios realizados los valores de MAT son inferiores a los descritos para el MRT intravenoso.

Estudios con otras fluoroquinolonas en cabras han descrito valores de MAT similares a los encontrados en nuestro estudio en el caso de enrofloxacino (2,30 h, Titos, 2010) cuando se administró una dosis de 5mg/kg. Valores menores se han encontrado en y orbifloxacino (0,89 h, Marín y cols., 2007d) a dosis de 2,5 mg/kg, y mayores en el caso de moxifloxacino (4,31 h; Fernández-Varón y cols., 2006b) y difloxacino (3,67 h; Marín y cols., 2007a) administrados a dosis de 5 mg/kg, resultando ser estos últimos dos valores superiores a sus respectivos MRT intravenosos.

5.2.2.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.

Otro parámetro a tener en cuenta tras la administración subcutánea es el tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima o tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$). El valor de este parámetro ha sido de 1,92 h (Tabla 17). 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 Escudero y cols. (2007) en cabras, señalan valores de $T_{m\acute{a}x}$ de 1,64 similares al obtenido en nuestro estudio. Este mismo resultado ha sido reportados en ovejas (1,63 h) y en vacas (2,17 h) a la misma dosis de administración (Escudero y cols., 2007, Mestorino y cols., 2009).

En otras especies animales se han obtenido valores de $T_{m\acute{a}x}$ inferiores: 1,46 h en tortugas (Marín y cols., 2008), 0,68 h en conejos (Fernández-Varón y cols., 2007), 1,25 y 1 h en ganado bovino a dosis de 1.25 y 5 mg/kg de peso respectivamente (McKellar y cols., 1999) (Mann y Frame, 1992). Los resultados obtenidos en estos estudios nos indican una absorción más rápida del danofloxacino en la cabra respecto de otros animales.

Entre las diversas fluoroquinolonas estudiadas en cabras se han obtenido valores superiores de $T_{m\acute{a}x}$ a diferentes dosis, de 2,42 h para moxifloxacino (Fernández-Varón y cols., 2006b), 2,9 h para enrofloxacino (Ramesh y cols., 2002) y 3,37 h para difloxacino (Marín y cols., 2007a). Por el contrario, el $T_{m\acute{a}x}$ para orbifloxacino, de 1,25 h es menor.

En cuanto a la concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$), el valor obtenido para el danofloxacino en cabra, ha sido de 1,52 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 17). El estudio realizado por Escudero y cols. (2007) realizado bajo las mismas condiciones de trabajo obtuvo un valor comparable (1,05 $\mu\text{g/mL}$). En ovejas, con la misma dosis, la $C_{m\acute{a}x}$ es de 1,48 $\mu\text{g/mL}$ (Escudero y cols., 2007) similar a la obtenida por nosotros en cabras.

En otras especies animales se han descrito valores superiores de $C_{m\acute{a}x}$ en conejos y tortugas: 1,79 y 10,35 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Fernández-Varón y cols., 2007 y Marín y cols., 2008).

Otros estudios describen resultados de $C_{m\acute{a}x}$ menores. Se han obtenido valores de de 0,53 $\mu\text{g/mL}$ y 0,63 $\mu\text{g/mL}$ en vacas lecheras y ganado vacuno para danofloxacino, si bien en el segundo estudio administran una dosis de 5 mg/kg de peso. (Mestorino y cols., 2009; Mann y Frame, 1992). Aún menor es en terneros (0,229 $\mu\text{g/mL}$; McKellar y cols., 1999), aunque la dosis administrada fue de 1,25 mg/kg de peso.

En otras fluoroquinolonas descritas en cabras se han obtenido valores superiores de $C_{m\acute{a}x}$, como ocurre con el enrofloxacino (2,91 $\mu\text{g/mL}$; Ramesh y cols., 2002), moxifloxacino (1804,23 $\mu\text{g/L}$; Fernández-Varón y cols., 2006b) y el orbifloxacino (1850 $\mu\text{g/L}$; Marín y cols., 2007d), si bien se utilizó una dosis de 5 mg/kg en el primer y segundo caso y para el tercero se utilizó una dosis de 2,5 mg/kg. Por el contrario, se han obtenido $C_{m\acute{a}x}$ inferiores a los del danofloxacino con el difloxacino (1330 $\mu\text{g/L}$; Marín y cols., 2007a) a dosis de 5 mg/kg de peso.

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 danofloxacino en cabras. Las constantes de absorción y eliminación, que se extraen de dicha ecuación no son reales, sino aparentes.

En este caso, la constante de absorción aparente (k_a) es $0,5517 \text{ h}^{-1}$ (Tabla 15) y la vida media asociada a la misma ($t_{1/2ka}$) 1,33 h.

Si comparamos el valor obtenido para $t_{1/2ka}$ con el obtenido para $t_{1/2\lambda_z}$ intravenoso, que es 2,97 h (Tabla 4), podemos observar como este último es casi 2,5 veces mayor, lo que indica que la fase de absorción no condiciona la eliminación del danofloxacino en la cabra.

Sólo se dispone de valores de k_a de danofloxacino tras su administración subcutánea en vacas y conejos, cuyos valores son $1,46 \text{ h}^{-1}$ y $4,11 \text{ h}^{-1}$, a los que les corresponden unos $t_{1/2ka}$ de 0,64 h y 0,17 h, respectivamente (Mestorino y cols., 2009; Fernández-Varón y cols., 2007). Como podemos observar, estos últimos valores son inferiores al hallado en nuestro estudio, por lo que la absorción del danofloxacino, tras su administración subcutánea, es mucho más lenta en vacas y conejos que en las cabras.

En cabras, tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg en difloxacino (Marín y cols., 2007a) y moxifloxacino (Fernández-Varón y cols., 2006b) y de 2,5 mg/kg de orbifloxacino (Marín y cols., 2007d), el $t_{1/2ka}$ es de 2,19 h, 1,71h y 0,63 h, respectivamente. Por tanto, la absorción es más lenta en el caso del difloxacino y moxifloxacino y más rápida en el caso de orbifloxacino.

5.2.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD.

El AUC, obtenido tras la administración subcutánea, alcanza un valor de 8,04 mg·h/L (Tabla 17). Este valor es similar al obtenido en conejos en un estudio realizado por Fernández- Varón y cols. (2007) a la misma dosis utilizada en nuestro

estudio (7,68 mg·h/L). En ovejas también se ha observado valores comparables, aunque menores (7,11 mg·h/L Escudero y cols., 2007).

En cabras, el danofloxacino, en igualdad de condiciones que en nuestro estudio, se describió un AUC 1,3 veces superior al obtenido en nuestro estudio (5,84 mg·h/L; Escudero y cols., 2007).

En vacas, se han encontrado diferentes resultados respecto del AUC, siendo de 9,69 y 4,3 mg·h/L (Mestorino y cols., 2009; Mann y Frame, 1992) a dosis de 6 y 5 mg/kg respectivamente.

Otras especies animales han obtenido valores muy superiores. Tal es el caso de las tortugas con un AUC de 55.3 mg·h/L.

El AUC permite calcular la biodisponibilidad (F) del fármaco, tras la administración subcutánea, mediante la siguiente ecuación:

$$F = \frac{\text{AUC}_{sc} \cdot D_{iv}}{\text{AUC}_{iv} \cdot D_{sc}} \cdot 100 \quad (8)$$

La biodisponibilidad obtenida es del 99,55 % (Tabla 17). Escudero y cols., (2007) también obtuvieron una elevada biodisponibilidad en cabras (97%).

Datos similares se han observado en ovejas con un 93.6% (Escudero y cols., 2007), conejos con un 96.44% (Fernández- Varón y cols., 2007) y tortugas con un 98,72% (Marín y cols., 2008).

En el estudio realizado por Mann y Frame (1992) en vacas, se obtienen datos inferiores de biodisponibilidad, concretamente del 72%, si bien la dosis administrada fue menor, de 5 mg/kg.

Otras fluoroquinolonas estudiadas en cabras, tienen una biodisponibilidad menor, tras su administración subcutánea: 71% enrofloxacino (Titos, 2010), 96,87 % el moxifloxacino (Fernández-Varón y cols., 2006b), 90,16% difloxacino (Marín y cols., 2007a) y mayor, hasta un 108,96% el orbifloxacino (Marín y cols., 2007d). Si bien la dosis administrada fue de 5 mg/kg, excepto el orbifloxacino que se administró a dosis de 2.5mg/kg.

5.3.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE DANOFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% EN CABRAS.

5.3.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.

La evolución de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino, tras la administración subcutánea de 18 mg/kg en solución del polímero P407 al 25% (en adelante formulación SC1) a cabras, se ha ajustado a modelos mono y bicompartimentales, tanto con ponderación como sin ponderación de los datos experimentales.

Según el AIC, el modelo farmacocinético que mejor describe la evolución de las concentraciones de danofloxacino tras su administración subcutánea en formulación SC1, es el modelo bicompartimental abierto con absorción de primer orden, al igual que ocurría tras la administración subcutánea sin polímero.

En la literatura no existen estudios farmacocinéticos realizados con danofloxacino en fórmulas de liberación retardada como es el caso de la formulación SC1. Hay descrito un estudio de moxifloxacino 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, en la misma especie Marín y cols. (2010a) y Titos Arcos (2010) describieron la farmacocinética de la misma formulación con difloxacino y enrofloxacino, respectivamente. En ambos estudios el modelo compartimental descrito para la formulación SC-P407 fue bicompartimental.

Ajustes a modelo bicompartimental se han descrito en el caso de orbifloxacino (Marín y cols., 2007d) y difloxacino (Marín y cols., 2007a), tras su administración vía subcutánea a cabras.

El modelo bicompartimental abierto tras una dosis subcutánea, viene definido por la siguiente ecuación:

$$C = C_1 \cdot e^{-\lambda_1 t} + C_2 \cdot e^{-\lambda_2 t} - C_a \cdot e^{-k_a t} \quad (4)$$

La ecuación 4, adquiere valores distintos en cada animal. Los valores de los parámetros compartimentales y sus medias, así como los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 21. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación junto con el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV revelan que los parámetros son homogéneos y se ajustan a una distribución normal.

Por tanto, la ecuación que mejor describe la evolución de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino en formulación SC1 en cabra, tras su administración subcutánea, obtenida con los parámetros medios, adopta el siguiente valor:

$$C = 8640,51 \cdot e^{-0,4609 t} + 103,81 \cdot e^{-0,0874 t} - 219013,62 \cdot e^{-0,5525 t} \mu\text{g/L} \quad (5)$$

En el Gráfico 15 se representan las concentraciones medias experimentales de manera smilogarítmica, en la cual se observa como los niveles de danofloxacino aumentan durante la primera fase de absorción del fármaco, descienden rápidamente en la fase posterior y, a partir de este momento disminuyen de forma algo más paulatina, dando lugar a una tercera fase, que podría considerarse monoexponencial y que se mantiene hasta el final del proceso (hasta las 32 horas tras la administración).

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.

5.3.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental del danofloxacino en formulación SC1, se muestran en las Tablas 41 y 42. En las Tablas 44 y 45 aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales. Todos los parámetros van referidos a cada animal y a sus concentraciones medias.

5.3.2.1.- TIEMPOS DE VIDA MEDIA, MRT Y MAT.

El tiempo de vida media de la fase de disposición rápida ($t_{1/2\lambda 1}$) para danofloxacino ha sido 1,53 h y el tiempo de vida media de la fase de disposición lenta ($t_{1/2\lambda 2}$), considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982), 8,26 h (Tabla 21).

El $t_{1/2\lambda 1}$ obtenido resulta ser casi 6 veces superior a los obtenidos tras la administración intravenosa (Tabla 4), que es de 0,24 h.

En cuanto al $t_{1/2\lambda 2}$ (8,26 h), resulta ser casi 4,6 veces superior al obtenido tras la administración intravenosa (1,77 h; Tabla 4), y 5,5 veces superior al obtenido tras la administración subcutánea sin polímero (1,50 h; Tabla 15). Esto puede ser indicativo de que el proceso de absorción, al igual que en la administración subcutánea sin polímero, puede ser en un factor limitante de la eliminación.

Si comparamos la semivida del fármaco obtenida en nuestro estudio al administrar el danofloxacino en formulación SC1, con el valor obtenido en otro estudio en cabras cuando se administró vía subcutánea sin polímero a la misma dosis de 6 mg/kg (Escudero y cols., 2007), la diferencia es menor a la obtenida en el nuestro, unas 2 veces. Una relación semejante, resulta cuando la comparamos con la semivida de danofloxacino, tras su administración subcutánea sin polímero, en otros animales tales como la Oveja (Escudero y cols., 2007) y conejo (Fernández-Varón y cols., 2007).

En el caso de otras fluoroquinolonas administradas con la formulación SC1 el aumento de la vida media respecto a la vía intravenosa y SC sin polímero fue en el caso de difloxacino en cabras de 5,23 h (IV)---5,69 h (SC)---32,36 h (SC1) (Marín y cols., 2010a). Para enrofloxacino la misma secuencia fue de 10,44 h (IV)---12,42 h (SC)---19,97 h (SC1) (Titos, 2010). Por lo tanto, el alargamiento de la vida media esperado en el caso de danofloxacino es sustancialmente menor al esperado, teniendo en cuenta los resultados obtenidos con la misma formulación para difloxacino y enrofloxacino, aunque supone un alargamiento de la vida media con evidentes ventajas clínicas.

En conejos, cuando se administró moxifloxacino en solución del polímero P407 al 30% vía subcutánea a una dosis de 15 mg/kg, se obtuvo un valor de semivida del

fármaco de 11,09 h, siendo este valor, al igual que ocurría en nuestro estudio, superior (5,2 veces) al obtenido para la vía intravenosa y (2 veces) para la subcutánea sin polímero (Cárceles y cols., 2006).

Por otro lado, el valor del MRT alcanza un valor de 3,56 h (Tabla 23). Este parámetro es 1,6 veces mayor al descrito tras la administración intravenosa (2,18 h; Tabla 11). Sin embargo, es casi 1,1 veces inferior al obtenido vía subcutánea sin polímero (4,39 h; Tabla 17).

Si nos fijamos en los valores de MRT obtenidos en otros animales cuando se les administró danofloxacino vía subcutánea sin polímero, podemos destacar que en ovejas, se obtuvieron valores de MRT superiores a los obtenidos en nuestro estudio al administrar el danofloxacino en formulación SC1. Este valor fue de 4,93 h para las ovejas (Escudero y cols., 2007).

Diferencias similares a las obtenidas en nuestro estudio entre los valores de MRT para las diferentes vías (intravenosa, subcutánea y subcutánea con polímero), se describen en conejo cuando se le administró moxifloxacino por las vías comentadas, siendo los valores de MRT de 2,61 h, 5,21 h y 7,99 h, para las vías intravenosa, subcutánea y subcutánea en solución del polímero P407 al 30%, respectivamente (Cárceles y cols., 2006).

En las Tablas 22 y 23, se presentan los valores correspondientes al MRT y el tiempo medio de absorción (MAT) subcutáneos cuando se administró danofloxacino en formulación SC1. El MRT intravenoso aparece en las Tablas 10 y 11. A la vista de los resultados obtenidos, se puede apreciar como el MAT presenta un valor superior al MRT intravenoso. Si se consideran los valores medios obtenidos, el MRT intravenoso (2 h) resulta ser entorno a 1,12 veces inferior al MAT subcutáneo obtenido tras la administración del danofloxacino en formulación SC1 (2,24 h). De ello se concluye que, en principio, la absorción, tras la administración subcutánea de danofloxacino en esta formulación, condiciona su eliminación, aunque con un menor efecto que en otros casos.

Valores inferiores de MAT se han obtenido en otros animales en los que se ha administrado el danofloxacino sin polímero siendo el mayor valor descrito de 2,01 h y 2,07 h en cabras y ovejas, respectivamente (Escudero y cols., 2007).

Cuando se administró moxifloxacino en conejo vía subcutánea en solución del polímero P407 al 30%, se obtuvo un valor de MAT de 2,39 h, inferior al MRT intravenoso (2,61 h) (Cárceles y cols., 2006). Si bien, esta diferencia es mínima, ocurría al contrario que en nuestro estudio, en el que el valor de MAT es muy superior al MRT intravenoso.

5.3.2.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.

El $T_{m\acute{a}x}$ ha resultado ser 1,92 h (Tabla 42). Si lo comparamos con el $T_{m\acute{a}x}$ obtenido en la vía subcutánea sin polímero (2,00 h; Tabla 25), resulta ser casi igual.

Un valor superior, concretamente de 4,92 h, se obtuvo en conejos cuando se administró moxifloxacino en solución del polímero P407 al 30%, que resultó ser unas 6 veces superior al obtenido sin polímero vía subcutánea (Cárceles y cols., 2006).

Para enrofloxacino administrado en cabras con la misma formulación el $T_{m\acute{a}x}$ fue de 4 horas (Titos, 2010) y en el caso de difloxacino fue de 3,6 horas (Marín y cols., 2010a).

Para el danofloxacino administrado por vía subcutánea sin polímero se han obtenido valores de $T_{m\acute{a}x}$ más cortos en ovejas (1,6 h; Escudero y cols., 2007) y en terneros un valor bastante inferior (0,23 h; Mckellar y cols., 1999).

La $C_{m\acute{a}x}$, obtenida para danofloxacino en formulación SC1 en cabra, ha sido de 4,34 mg/L (Tabla 23), 2,8 veces superior a la $C_{m\acute{a}x}$ alcanzada tras la administración subcutánea sin polímero (1,52 mg/L; Tabla 17). Teniendo en cuenta que la administración del danofloxacino junto con polímero se hizo a una dosis 3 veces superior (18 mg/kg, en lugar de 6 mg/kg), resulta congruente con ese aumento de dosis en la vía SC1.

Para enrofloxacino administrado en cabras con la misma formulación el $C_{m\acute{a}x}$ fue de 2,93 mg/L (Titos, 2010) y en el caso de difloxacino fue de 2,97 mg/L (Marín y cols., 2010a).

En el estudio realizado en conejos por Cárceles y cols. (2006), en el que se administró una dosis de 15 mg/kg de moxifloxacino en solución del polímero P407 al 30%, se obtuvo una $C_{m\acute{a}x}$ inferior, concretamente de 1,830 mg/L, concentración similar a la hallada cuando se administró el moxifloxacino sin polímero (1,610 mg/L).

En cabras, se ha obtenido una $C_{m\acute{a}x}$ muy elevada para danofloxacino cuando se administró a una dosis de 6 mg/kg: 1,05 mg/L, 4 veces inferior que el valor descrito en nuestro estudio (Escudero y cols., 2007).

En nuestro experimento la concentración inicial alcanzada por vía intravenosa a una dosis de 6 mg/kg, es aproximadamente 1,5 veces superior a las concentraciones máximas experimentales alcanzadas cuando se administró una dosis de 18 mg/kg junto con polímero vía subcutánea.

5.3.2.3.- CONSTANTE DE ABSORCIÓN Y SEMIVIDA DE ABSORCIÓN.

Tras la administración de danofloxacino en formulación SC1 a cabras, se ha obtenido un valor aparente de la constante de absorción (k_a) de 0,55 h⁻¹ (Tabla 21) y de la vida media asociada a la misma ($t_{1/2ka}$) de 1,34 h (Tabla 21).

Si comparamos la $t_{1/2ka}$ con la obtenida tras la administración subcutánea del danofloxacino (1,33 h; Tabla 15), podemos observar como la absorción es similar cuando se administra el fármaco en formulación SC1.

Si comparamos el valor de $t_{1/2ka}$ con el $t_{1/2\lambda z}$ intravenoso, que fue de 2.97 h (Tabla 4), podemos observar como este último es casi 2 veces mayor, lo que nos podría indicar que la fase de absorción no condiciona la eliminación del danofloxacino en la cabra.

Cárceles y cols. (2006), en su estudio realizado con moxifloxacino en solución del polímero P407 al 30% en conejos obtuvieron una k_a de 0,42 h⁻¹, y un $t_{1/2ka}$ de 1,66 h. Si se compara el valor obtenido, con el descrito en el mismo estudio cuando se

administró el moxifloxacino sin polímero vía subcutánea ($k_a = 0,32 \text{ h}^{-1}$ y de $t_{1/2ka} = 2,17 \text{ h}$), se puede observar que la absorción es más rápida cuando se administró el moxifloxacino con polímero, al contrario de lo que ocurría en nuestro caso.

5.3.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD.

El AUC, obtenido tras la administración subcutánea de una dosis de 18 mg/kg del danofloxacino en formulación SC1, alcanza un valor de 21,54 mg·h/L (Tabla 23).

Si lo comparamos con el obtenido para el moxifloxacino, cuando se administró junto con polímero P407 al 30% a conejos vía subcutánea a una dosis de 15 mg/kg (14,52 mg·h/L; Cárceles y cols., 2006), resulta ser 1,5 veces mayor. En el caso de enrofloxacino administrado a cabras en la misma formulación SC1 de nuestro estudio a una dosis de 15 mg/kg, el AUC obtenido fue de 37,48 mg·h/L, bastante superior al de danofloxacino en el presente estudio (Titos, 2010).

La biodisponibilidad obtenida ha sido del 89.20% (Tabla 23). Como podemos observar, la asociación del polímero hace que la biodisponibilidad sea inferior, ya que el valor de biodisponibilidad obtenido cuando se administró el danofloxacino vía subcutánea con polímero fue del 99.55% (Tabla 17), reduciéndose aproximadamente en un 10% si se compara con la vía subcutánea, y un 11% si se compara con la vía intravenosa.

Esta disminución en la biodisponibilidad también se detecta en el estudio realizado en conejos cuando se utilizó el polímero P407 al 30% junto con moxifloxacino tras su administración subcutánea (Cárceles y cols., 2006), en el caso de enrofloxacino en cabras (Titos, 2010), y de difloxacino en cabras (Marín y cols., 2010a).

5.4.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE DANOFLOXACINO EN SOLUCIÓN DEL POLÍMERO P407 AL 25% + CARBOXIMETILCELULOSA AL 2% EN CABRAS.

5.4.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO.

Teniendo en cuenta los valores más favorables de AIC (menores), se ha comprobado que la evolución de las concentraciones plasmáticas en cuatro de los animales, se ajustan a un modelo bicompartimental con ponderación. Por otro lado, dos animales se ajustan a un modelo tricompartmenta. Por tanto, podemos concluir que el modelo farmacocinético bicompartimental abierto y tricompartmental son los que mejor describen la evolución de las concentraciones plasmáticas experimentales obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 18 mg/kg de danofloxacino en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (en adelante formulación SC2) en cabras.

No se han realizado estudios experimentales farmacocinéticos con danofloxacino en formulación SC2, pero este resultado concuerda con lo que hemos encontrado con la formulación SC1 en el caso de los cuatro animales que se ajustan a un modelo bicompartimental. 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. Y en el caso del estudio de difloxacino en cabras con la formulación SC2 realizado por Escudero y cols. (2011), no se realizó tampoco un análisis compartimental.

Para cada animal se ha obtenido la ecuación de ajuste (Tabla 27 y 29). Para hallar la ecuación que mejor define la evolución de las concentraciones plasmáticas de danofloxacino en la cabra, se deben llevar a cabo estudios estadísticos que permitan calcular los valores medios para cada uno de los parámetros que intervienen en la misma. De este modo, los estadísticos correspondientes a los parámetros farmacocinéticos, deducidos a partir de las concentraciones plasmáticas experimentales, así como los resultados del test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, se muestran en las Tablas 28 y 30).

Por consiguiente, la ecuación que define la evolución de las concentraciones plasmáticas experimentales, en las cabras A, B, C y E, de una dosis única de 18 mg/kg de danofloxacino en formulación SC2, adquiere el siguiente valor:

$$C = 5949,83 \cdot e^{-0,4233 t} + 218 \cdot e^{-0,1091 t} - 228137 \cdot e^{-0,4233 t} \quad \mu\text{gr/L (6)}$$

Para las cabras D y F se ha obtenido un mayor ajuste con la siguiente ecuación:

$$C = 100043,61 \cdot e^{-133,4 t} + 5015,41 \cdot e^{-0,4161 t} + 85,83 \cdot e^{-0,0972 t} - 155835,11 \cdot e^{-0,4151 t} \quad \mu\text{gr/L (7)}$$

En los Gráficos 23-28 se representan las concentraciones medias experimentales de manera semilogartímica para cada animal por separado. En las cabras A, B, C y E se observa un aumento de los niveles de danofloxacino durante la primera fase (absorción del fármaco), un descenso rápido en la fase posterior hasta aproximadamente las 8 horas (2ª fase) y, a partir de este momento un descenso más lento, dando lugar a una tercera fase, que podría considerarse monoexponencial y que se mantiene hasta el final del proceso (hasta las 32 horas tras la administración, a excepción de la cabra A, que se alarga hasta las 72 horas). En las cabras D y F, aparece una fase adicional de eliminación, correspondiente a una farmacocinética tricompartmental.

5.4.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

A continuación se van a comentar los parámetros farmacocinéticos más representativos del danofloxacino en formulación SC2 tras su administración subcutánea a cabras. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental para cada uno de los animales y para las concentraciones medias se muestran en las Tablas 26,27,28 y 29 (modelo bicompartimental y tricompartmental), respectivamente. En las Tablas 30 y 31 aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales del fármaco referentes a cada animal y para las concentraciones medias, respectivamente.

5.4.2.1.- TIEMPOS DE VIDA MEDIA, MRT Y MAT.

Se ha calculado el tiempo de vida media de la fase de disposición rápida ($t_{1/2,1}$) para danofloxacino en las cuatro cabras ajustadas a un modelo bicompartimental obteniendo un valor de 1,70 horas, y el tiempo de vida media de la fase de disposición lenta ($t_{1/2,z}$) con un valor de 7.24 horas, 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. En el caso de las cabras ajustadas al modelo tricompartmental los tiempos de vida media $t_{1/2,1}$, $t_{1/2,2}$ y $t_{1/2,z}$ hemos obtenidos valores de 0.0052 h, 1.67 h y 7.13 horas, respectivamente.

El $t_{1/2,1}$ (1,70 h) del modelo bicompartimental resulta ser casi 7 veces superior al obtenido tras la administración intravenosa (0,647 h; Tabla 4). Si lo comparamos con las administraciones subcutánea SC1, podemos observar que el valor de $t_{1/2,1}$ es prácticamente igual (1.53 h). Por tanto, esta formulación SC2 de danofloxacino ralentiza el $t_{1/2,1}$ respecto a cuando se administra con la formulación SC1 (1,70 h; Tabla 27), que, a su vez, ralentiza este parámetro a cuando se administra sin polímero, ya que en el caso de la SC sin polímero, el modelo que mejor se ajustaba a los datos obtenidos es el monocompartimental, el mismo hecho de pasar de un modelo monocompartimental a un bicompartimental con las formulaciones sostenidas SC1 y SC2, refuerza la teoría de que las formulaciones sostenidas ralentizan el proceso.

En cuanto al $t_{1/2,z}$, el valor obtenido (7,13 h y 7,24 h; Tablas 27 y 29) resulta ser 4 veces superior al obtenido tras la administración intravenosa (1,77 h; Tabla 4). Igualmente, si la comparamos con las vías subcutáneas sin y con el polímero P407, el resultado es que cuando se administra el danofloxacino en formulación SC2, supera en 4,8 veces la vida media del danofloxacino administrado sin polímero (1,50 h; Tabla 15) y resulta inferior a la vida media del danofloxacino administrado en formulación SC1 (8,26 h; Tabla 21). Esto puede ser indicativo de que el proceso de absorción, al igual que en la administración subcutánea sin y con el polímero, puede convertirse en un factor limitante de la eliminación.

Titos (2010), da un valor de $t_{1/2,1}$ para enrofloxacino, administrado en cabras vía subcutánea a una dosis de 15 mg/kg con la misma formulación SC2 de nuestro estudio, de 48,31 h.

El MRT alcanza, en este caso, un valor de 5,44 h (Tabla 30). Este parámetro al compararlo con el valor descrito en la vía intravenosa es 2,5 veces mayor (2,18 h; Tabla 11). También es superior, al obtenido vía subcutánea sin polímero (4,39 h; Tabla 17) y cuando se administra vía subcutánea con formulación SC1 (4,42 h; Tabla 23).

Si comparamos el valor obtenido de MRT cuando se administra el danofloxacino vía subcutánea en formulación SC2, con el obtenido en otros animales al administrarlo solo, podemos ver que es similar, ya que los valores de MRT reportados oscilan entre 4,93 h en ovejas (Escudero y cols., 2007).

En las Tablas 22 y 23, se presentan los valores correspondientes al MRT y el tiempo medio de absorción (MAT) subcutáneos cuando se administró danofloxacino en formulación SC2. El MRT intravenoso aparece en las Tablas 10 y 11. A la vista de los resultados obtenidos, se puede apreciar como todos los animales presentan un valor de MAT superior al MRT intravenoso, a excepción de la cabra D. Si se consideran los valores medios obtenidos, el MRT intravenoso (2,18 h) resulta ser entorno a 1,5 veces inferior al MAT subcutáneo obtenido tras la administración del danofloxacino en formulación SC2 (3,26 h). De ello se concluye que, en principio, la absorción, tras la administración subcutánea de danofloxacino en esta formulación, condiciona su eliminación.

Valores muy inferiores de MAT se han obtenido en otros animales en los que se ha administrado el danofloxacino sin polímero siendo el mayor valor descrito de 2,01 h y 2,07 h en cabras y ovejas, respectivamente (Escudero y cols., 2007).

5.4.2.2.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA.

El valor de $T_{m\acute{a}x}$ obtenido para el danofloxacino administrado en formulación SC2 es 2,33 h (Tabla 30), casi el doble al descrito cuando administramos por vía subcutánea el danofloxacino con la formulación SC1 (1,42 h; Tabla 23). Sin embargo, si lo comparamos con el $T_{m\acute{a}x}$ hallado cuando administramos el danofloxacino vía subcutánea sin el polímero P407, la diferencia es menor, siendo el valor de este último de 1,92 horas (Tabla 17). Es decir, el administrar el danofloxacino en formulación SC1 no se retrasa el $T_{m\acute{a}x}$ respecto a lo que ocurre al administrar la formulación SC2 que sí retrasa el $T_{m\acute{a}x}$ de danofloxacino en plasma de cabra.

Como se comentó anteriormente, valores de $T_{m\acute{a}x}$ menos prolongados se han obtenido en otros animales en los que se administró danofloxacino vía subcutánea sin polímero, como es el caso del ganado bovino (0,83 h; Aliabadi y Lee., 2003) u ovejas (1,63 h; Escudero y cols., 2007).

La $C_{m\acute{a}x}$, obtenida para danofloxacino en formulación SC2 en cabra, ha sido de 2,83 mg/L (Tabla 30), 1,5 veces inferior a la obtenida cuando se administró el danofloxacino vía subcutánea en formulación SC1 (4,26 mg/L; Tabla 23); si bien sigue siendo superior a la $C_{m\acute{a}x}$ alcanzada tras la administración subcutánea sin polímero (1,52 mg/L; Tabla 17). Hay que tener en cuenta que la administración del danofloxacino con las formulaciones sostenidas se hizo a una dosis de 18 mg/kg, 3 veces superior a cuando se administró sin polímero.

Valores de $C_{m\acute{a}x}$ inferiores se han descrito en otras especies, tras la administración de una dosis de 6 mg/kg o 1,25 mg/kg de peso de danofloxacino vía subcutánea y sin polímero (Escudero y cols., 2007; Fernández-Varón y cols., 2007), lo cual es lógico teniendo en cuenta que la dosis administrada en nuestro estudio es de 18 mg/kg.

Si comparamos nuestro resultado de la concentración inicial alcanzada por vía intravenosa al administrar una dosis de 6 mg/kg de danofloxacino, vemos que alcanza un valor 3 veces superior a la $C_{m\acute{a}x}$ aquí obtenida.

5.4.2.3.- CONSTANTE DE ABSORCIÓN Y SEMIVIDA DE ABSORCIÓN.

Tras la administración de danofloxacino en formulación SC2 en las cabras A, B, C y E, se ha obtenido una constante de absorción aparente (k_a) de $0,42 \text{ h}^{-1}$ y una vida media asociada a la misma ($t_{1/2ka}$) de 1,68 h (Tabla 27). Para las cabras D y F, los valores obtenidos son iguales, de $0,42 \text{ h}^{-1}$ y 1,67 h, respectivamente (Tabla 29).

Al comparar estos valores de $t_{1/2ka}$ con la obtenida tras la administración subcutánea del danofloxacino en formulación SC1 (1,34 h; Tabla 21) podemos ver que son algo menores, al igual que en el caso del la vía subcutánea sin el polímero P407 (1,33 h; Tabla 15).

También, podemos comparar $t_{1/2ka}$ con el $t_{1/2Lz}$ obtenidos en la formulación SC2 (7,47 h; Tabla 29), observando como este último es casi 4,4 veces mayor, lo que nos podría indicar que la fase de absorción no condiciona la eliminación del danofloxacino en la cabra.

Para el danofloxacino, existen descritos valores de $t_{1/2ka}$ en bovino (0,53 h; Shemtov., 1998) y conejos (0,17 h; Fernández-Varón y cols., 2006), cuando se administró una dosis de 6 mg/kg sin polímero, muy inferiores a los obtenidos en nuestro estudio.

En cabras, y para el difloxacino tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg, se han registrado valores de $t_{1/2ka}$ prácticamente iguales, si bien algo superiores a los obtenidos en nuestro estudio al administrar danofloxacino en formulación SC2 (2,19 h; Marín y cols., 2007a).

5.4.2.4.- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD.

El AUC, obtenido tras la administración subcutánea de una dosis de 18 mg/kg de danofloxacino en formulación SC2, alcanza un valor de 17,54 mg·h/L (Tabla 31).

La biodisponibilidad obtenida ha sido 73,04% (Tabla 73). Como podemos observar, la asociación al polímero P407 de la caboximetilcelulosa hace que la biodisponibilidad sea inferior con respecto a la obtenida cuando se administró el danofloxacino vía subcutánea en formulación SC1 (89,20%; Tabla 23), aunque en ambos casos las biodisponibilidades son bastante satisfactorias.

Si comparamos el valor de biodisponibilidad descrito tras la administración del danofloxacino vía subcutánea en formulación SC2 (73,04%) con el obtenido tras la administración del danofloxacino vía subcutánea sin polímero (99,55%; Tabla 17), podemos destacar una reducción del 16%. Respecto a la vía intravenosa, la biodisponibilidad se reduce un 27%.

Un valor superior próximo al 100% de biodisponibilidad del danofloxacino se ha descrito en cabras al administrar el danofloxacino vía subcutánea a una dosis de 6 mg/kg sin polímero, 99% y del 93% en ovejas (Escudero y cols., 2007).

5.5.-INTEGRACIÓN

FARMACOCINÉTICA/FARMACODINÁMICA

Danofloxacino, como el resto de fluoroquinolonas, pertenece al grupo de antibacterianos cuya actividad antimicrobiana es concentración dependiente, es decir, la muerte bacteriana va a depender de la concentración alcanzada. En consecuencia, los dos parámetros farmacocinético-farmacodinámicos (PK-PD), que se correlacionan con mayor frecuencia con el éxito clínico en el tratamiento de una infección y con la aparición de mutantes resistentes son la relación de concentración plasmática máxima $C_{m\acute{a}x}/CMI$ y el ratio área bajo la curva AUC/CMI (Xuan et al., 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 marcadores para predecir la eficacia clínica frente a un patógeno dado (Craig, 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 realizadas en la especie humana, por lo que pueden ser, o no, aplicables a infecciones en la especie caprina o en general, a infecciones en animales (Lees y Shojaee Aliabadi, 2002a). Sin

embargo, corrigiendo las diferencias interespecíficas, a partir de estudios realizados con modelos animales *in vivo* se puede extrapolar y determinar el valor del parámetro PK-PD necesario para obtener eficacia antimicrobiana y minimizar la aparición de resistencias (Andes y Craig, 2002a; Toutain y Lees, 2004).

Además se debe tener en cuenta, que el medio de cultivo empleado para obtener las CMI utilizadas en la integración PK-PD, difiere en muchos aspectos de los fluidos biológicos (plasma y líquido intersticial). Existen diferencias en la concentración de iones (calcio y magnesio, que pueden inactivar a ciertos antimicrobianos), el pH (que puede provocar la ionización de los fármacos y por tanto su menor penetración tisular) y la concentración proteica (sólo el fármaco libre posee acción antibacteriana) entre otros. Por estos motivos, no se puede asumir que los valores de las CMI obtenidas *in vitro* sean idénticas a las obtenidas utilizando los mencionados fluidos biológicos (Aliabadi y Lees, 2003).

Para realizar la integración PK-PD se utilizaron las CMI publicadas por Marín y col. (2010b) de 32 cepas aisladas de mamitis caprinas. De estas cepas, ocho presentaron una CMI de 0.12 $\mu\text{g/mL}$, dieciséis de 0.25 $\mu\text{g/mL}$, cuatro de 0.5 $\mu\text{g/mL}$ y cuatro de 1 $\mu\text{g/mL}$.

Por tanto, en el presente estudio, para las cepas caprinas con CMI frente a danofloxacino de 0,12 $\mu\text{g/mL}$, las ratios AUC/CMI, teniendo en cuenta una corrección de los datos a igualdad de dosis (6 mg/kg), calculados para la administración subcutánea de danofloxacino sin polímero (formulación SC) (AUC/CMI = 66.75), subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (formulación SC1) (AUC/CMI = 59.56) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (formulación SC2) (AUC/CMI = 48.15), no predicen *a priori* el éxito clínico del tratamiento con este quimioterápico. Sin embargo, las ratios $C_{\text{máx}}/\text{CMI}$, corregidas a igualdad de dosis (6 mg/kg) obtenidas para las tres formulaciones (SC: $C_{\text{máx}}/\text{CMI}$ = 12.63; SC1: $C_{\text{máx}}/\text{CMI}$ = 11.83; SC2: $C_{\text{máx}}/\text{CMI}$ = 7.85), señalan, en principio, que se previene la aparición de mutantes resistentes (Tabla 36) con las dos primeras formulaciones. Recordamos que esto es en el caso de una dosis de 6 mg/kg en las tres formulaciones. Sin embargo, nosotros hemos utilizado en las formulaciones SC1 y SC2

una dosis de 18 mg/kg. Cuando atendemos a los datos obtenidos en esta situación, al comparar las ratios AUC/CMI, podemos observar los siguientes resultados:

- formulación SC1: $AUC/CMI = 178.67$
- formulación SC2: $AUC/CMI = 144.46$

Estos datos predicen claramente el éxito clínico del tratamiento con las dos formulaciones retardadas. Asimismo, las ratios $C_{m\acute{a}x}/CMI$ obtenidas son:

- formulación SC1; $C_{m\acute{a}x}/CMI = 35.49$
- formulación SC2: $C_{m\acute{a}x}/CMI = 23.54$

Éstas, señalan que la prevención de la aparición de mutantes resistentes (Tabla 36) está altamente asegurada. En esta situación, para las formulaciones SC1 y SC2, incluso para cepas con CMI de 0,25 µg/mL obtendríamos una ratio $C_{m\acute{a}x}/CMI$ entre > 10 (Tabla 36), sin embargo para la ratio AUC/CMI los valores alcanzados serían de 85.76 y 69.34, respectivamente, sin alcanzar el valor deseado de 100. No obstante, algunos autores han sugerido que valores de AUC/CMI, menores a 100, pueden ser apropiados en Medicina Veterinaria para animales inmunocompetentes. Lees y Shojaee Aliabadi (2002a), tras la administración de danofloxacino en varias especies rumiantes en experiencias *ex vivo*, han observado valores de AUC/CMI inferiores tal y como se muestra en la tabla siguiente:

AUC/CMI	Ternero	Oveja	Cabra	Camello
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

Por tanto las formulaciones SC1 y SC2 podrían ser eficaces en el tratamiento de infecciones en la especie caprina para cepas con CMI de 0.25 µg/ml. Concretamente, con las formulaciones SC1 y SC2 se conseguirían unas concentraciones por encima de

la CMI de 0.25 µg/mL hasta 10 y 12 h posteriores a su administración, respectivamente. Sin embargo, con la formulación SC obtendríamos unas concentraciones superiores a la CMI de 0,25 µg/mL de tan sólo 8 h posteriores a su administración.

La especialidad medicamentosa de partida, señala como régimen de dosificación una administración subcutánea única o dos administraciones con 48 horas de intervalo entre administraciones (dosis 6 mg/kg) en la especie bovina. Atendiendo a los resultados obtenidos (Tablas 35 y 36), esa pauta puede ser motivo de aparición de resistencias y de ineficacia clínica en la especie caprina, ya que con la formulación SC, las concentraciones plasmáticas tan sólo se mantienen por encima de la CMI hasta las 8 horas. En cambio la formulación SC1 mantiene esas concentraciones hasta las 10 horas (es decir se multiplica por 1.25) y, la formulación SC2, hasta las 12 horas (es decir, se multiplica por 1.5). Por tanto, la utilización de las formulaciones propuestas permiten, *a priori*, disminuir sensiblemente el número de administraciones.

Para las cepas con CMI de 0,5 y 1 µg/mL, las formulaciones SC, SC1 y SC2 parecen no ser eficaces. Sin embargo las formulaciones retardadas obtienen una ratios más favorables, por lo que clínicamente son más recomendables (Tabla 36).

6.- CONCLUSIONES

1.- El comportamiento farmacocinético de danofloxacino tras su administración intravenosa (formulación IV) a una dosis única de 6 mg/kg, y tras su administración subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (formulación SC1), y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (formulación SC2), a una dosis de 18 mg/kg se ajusta a un modelo bicompartimental abierto, salvo en el caso de dos animales correspondientes a la formulación SC2 que se ajustan a un modelo tricompartmental. Las ecuaciones que los representan son las siguientes (expresadas en $\mu\text{g/L}$) :

- IV: $C = 4775,98 \cdot e^{-2,71 t} + 1374,26 \cdot e^{-0,2958 t}$
- SC1: $C = 8640,51 \cdot e^{-0,4609 t} + 103,81 \cdot e^{-0,0874 t} - 219013,62 \cdot e^{-0,5525 t}$
- SC2: $C = 5949,83 \cdot e^{-0,4233 t} + 218 \cdot e^{-0,1091 t} - 228137 \cdot e^{-0,4233 t}$
- SC2: $C = 100043,61 \cdot e^{-133,4 t} + 5015,41 \cdot e^{-0,4161 t} + 85,83 \cdot e^{-0,0972 t} - 155835,11 \cdot e^{-0,4151 t}$

2.- El comportamiento farmacocinético de danofloxacino tras su administración subcutánea (formulación SC) en cabra, a una dosis única de 6 mg/kg, se ajusta a un modelo monocompartimental. Las ecuaciones que los representan son las siguientes:

- SC: $C = 5,04 \cdot e^{-0,47 t} + 66273,61 \cdot e^{-0,5517 t} \quad \text{mg/L}$

3.- Los tiempos de vida media ($t_{1/2\lambda z}$) obtenidos para danofloxacino para las diferentes vías de administración y formulaciones son: IV (2,97 h), SC (1,50 h), SC1 (8,26 h) y SC2 (7,41 y 7,92 h), siendo significativamente mayores los de las formulaciones sostenidas. Algo similar ocurre con el MRT, que adquiere, respectivamente, los siguientes valores: 2,18 h (IV), 4,39 h (SC), 4,42 h (SC1) y 5,44 h (SC2). La permanencia de danofloxacino es mayor tras la administración subcutánea (SC2) que es, por tanto, la mejor forma de administración a fin de obtener concentraciones plasmáticas durante un mayor tiempo.

4.- La depuración plasmática de danofloxacino en cabra medida por el aclaramiento corporal (Cl) adquiere un valor de 0,75 L/kg-h, tras su administración intravenosa.

5.- Los valores del volumen de distribución aparente en función del área bajo la curva ($V_z = 3,01$ L/kg) y en el estado estacionario ($V_{ss} = 1,61$ L/kg) de danofloxacino tras la administración por vía intravenosa, indican que existe una buena distribución del fármaco y un buen acceso a los tejidos y fluidos en esta especie.

6.- Las constantes de absorción obtenidas para danofloxacino han sido: formulación SC ($0,55$ h⁻¹), formulación SC1 ($0,55$ h⁻¹) y formulación SC2 ($0,42$ h⁻¹), siendo algo menor en la formulaciones sostenida SC1, por lo que la absorción es más lenta.

7.- La concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$), obtenida para danofloxacino en la formulación SC2 en cabra, es de 2,83 mg/L, 1,5 veces inferior a la obtenida al administrar el danofloxacino en la formulación SC1 (4,26 mg/L); si bien es superior a la $C_{m\acute{a}x}$ alcanzada tras la administración SC (1,52 mg/L). Sin embargo, hay que tener en cuenta que la administración del danofloxacino con las formulaciones sostenidas (SC1 y SC2) se hizo a una dosis 3 veces superior a la formulación SC. Al comparar los valores de $C_{m\acute{a}x}$, a igualdad de dosis, se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos con la formulación SC y los de las formulaciones sostenidas ($P < 0,05$). Además, también existen diferencias estadísticamente significativas para el tiempo en que se alcanza dicha concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$) entre la administración SC1 (1,42 h) y la formulacione SC2 (2,33 h) ($P < 0,05$).

8.- La biodisponibilidad (F) de enrofloxacino, tras su administración SC en cabra es del 99,55%. Valores inferiores de F resultan cuando se administra vía subcutánea en la formulación SC1 (89,20%) y en la SC2 (73,04%), existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los valores de F de la formulación SC1 y SC2 respecto de la SC ($P < 0,05$).

9.- Con los datos de CMI de danofloxacino, 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 6 mg/kg de danofloxacino por vía subcutánea con las tres formulaciones (SC, SC1 y SC2) podría ser efectiva contra aislados bacterianos con $\text{CMI} \leq 0,25 \mu\text{g/mL}$. Sin embargo, al haber utilizado en las formulaciones SC1 y SC2 una dosis de 18 mg/kg, los resultados presentados pueden predecir el éxito clínico y prevenir la aparición de resistencias frente aislados bacterianos con $\text{CMI} \leq 0,25 \mu\text{g/mL}$ e incluso con $\text{CMI} \leq 0,50 \mu\text{g/mL}$.

10.- La utilización de las formulaciones propuestas permitiría, *a priori*, disminuir sensiblemente el número de administraciones. Si hacemos una similitud con la posología recomendada, la formulación SC1 podría administrarse cada 48 horas y la SC2 cada 72 horas.

11.- El coste final del tratamiento debería ser inferior al tratamiento con la formulación convencional, ya que precisa de un menor número de administraciones.

7.- RESUMEN

Se ha estudiado el comportamiento cinético de danofloxacino en cabras tras su administración por las vías intravenosa y subcutánea a la dosis de 6 mg/kg, y tras la administración de danofloxacino en solución del polímero P407 al 25% y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% por vía subcutánea a la dosis de 18 mg/kg, con el fin de establecer los parámetros farmacocinéticos.

La determinación de danofloxacino en plasma se realizó mediante HPLC con detección fluorimétrica, siguiendo el método descrito por Siefert y cols. (1999). El ajuste a modelos farmacocinéticos compartimentales se realizó mediante los programas farmacocinéticos WinNonlin Professional® y MULTIFIT® (Proost, 1997). El criterio utilizado para determinar cuál era la ecuación que mejor describía la evolución de los datos experimentales en cada caso, fue el Criterio de Información de Akaike (AIC) (Yamaoka y cols., 1978). Para la determinación de los parámetros no compartimentales se utilizó el programa WinNonlin Professional®.

Tras la administración intravenosa, danofloxacino se distribuye según un modelo bicompartimental abierto, igual ocurre con ambas formulaciones de liberación controlada, a excepción de las cabras D y F de la formulación del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, que se ajustaron mejor a un modelo tricompartmental. Tras la administración subcutánea, danofloxacino se distribuye según un modelo monocompartimental.

Tras la administración intravenosa, la vida media obtenida para el danofloxacino ($t_{1/2\lambda z}$) fue de 2.97 ± 1.78 h con un tiempo medio de residencia (MRT) de 2.18 ± 0.29 h. Los volúmenes aparentes de distribución de danofloxacino calculados en función del área bajo la curva (V_z) y en estado estacionario (V_{ss}) resultaron ser de $3,01 \pm 0,98$ L/kg y $1,61 \pm 0,18$ L/kg respectivamente, indicando una amplia distribución orgánica. Por lo que respecta al aclaramiento plasmático (Cl), éste alcanzó un valor de $0,75 \pm 0,10$ L/kg·h.

Por vía extravascular, cuando se administró el danofloxacino 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: 1.50 ± 0.19 , 8.26 ± 1.66 y 4.29 ± 1.59 h, respectivamente, con unos valores de MRT de 4.39 ± 0.29 , 4.42 ± 0.48 y 5.44 ± 0.72 h, respectivamente.

La biodisponibilidad de danofloxacino cuando se administró por vía subcutánea sin polímero, alcanzó un valor de 99.55 ± 10.62 %. Valores algo inferiores se obtuvieron cuando se administró el danofloxacino vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% y en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, que fueron de 89.20 ± 26.78 % y 73.04 ± 15.31 %, respectivamente.

Se realizó la integración PK-PD utilizando las CMI's publicadas por nuestro grupo de investigación sobre 32 cepas de *Staphylococcus aureus* a fin de determinar los índices farmacocinético-farmacodinámicos óptimos. De dicho estudio se puede concluir que una dosis de 18 mg/kg de danofloxacino podría ser efectiva vía subcutánea cuando se administre junto con polímero P407 al 25% o junto con polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%, en cabras contra aislados bacterianos con $CMI \leq 0,12$ $\mu\text{g/mL}$ e incluso para $CMI \leq 0,25$ $\mu\text{g/mL}$.

8.- SUMMARY

Pharmacokinetics of danofloxacin was studied following intravenous and subcutaneous administration of single dose of 6 mg/kg, and after subcutaneous administration of two long-acting formulations (poloxamer 407 gel formulation and poloxamer 407 + carboxymethylcellulose) at a dose of 18 mg/kg to healthy lactating goats.

Plasma concentrations were determined by HPLC assay with fluorescence detection following the method described by Siefert et al. (1999). The fitting to compartmental pharmacokinetic models was carried out by using WinNonlin Professional® and MULTIFIT® (Proost, 1997) computers programmes. The Akaike's information criterion (AIC) (Yamaoka et al., 1978) was used to select the best equation that defines plasma concentration-time data for each animal. WinNonlin Professional® computer programme was used to obtain non-compartmental kinetic data.

The danofloxacin plasma concentration versus time data after intravenous and long-acting administrations could best be described by a two compartment open model, except to goats D and F (from poloxamer 407 + carboxymethylcellulose gel formulation), which could best be described by a three compartment model. The danofloxacin plasma concentration versus time data after subcutaneous administration could best be described by a one compartment open model,

The danofloxacin terminal half-life ($t_{1/2\lambda_z}$) was 2.97 ± 1.78 h after intravenous administration, with a mean residence time (MRT) of 2.18 ± 0.29 h. The apparent volumes of distribution calculated by the area method (V_z) and at steady-state (V_{ss}) were 3.01 ± 0.98 and 1.61 ± 0.18 L/kg, respectively, indicating a wide body distribution. Total body clearance was 0.75 ± 0.10 L/kg·h.

After extravascular administrations, terminal half-lives were 1.50 ± 0.19 , 8.26 ± 1.66 and 4.29 ± 1.59 h for danofloxacin administration subcutaneously without poloxamer, with long-acting poloxamer 407 gel formulation and with poloxamer 407 + carboxymethylcellulose, respectively. MRT values obtained were 4.39 ± 0.29 , 4.42 ± 0.48 and 5.44 ± 0.72 h, respectively.

Absolute bioavailability was 99.55 ± 10.62 % after danofloxacin subcutaneous administration. Somewhat lower values were obtained, 89.20 ± 26.78 % and 73.04 ± 15.31 %, after enrofloxacin administration subcutaneously with long-acting poloxamer 407 gel formulation and with poloxamer 407 + carboxymethylcellulose, respectively.

MICs of danofloxacin against different strains of *Staphylococcus aureus*, previously reported by our researched group, were used in order to compute pharmacodynamic surrogate markers. From this data, it is concluded that a 18 mg/kg dose of danofloxacin would be effective in solution of long-acting poloxamer 407 gel formulation and with poloxamer 407 + carboxymethylcellulose subcutaneous administration to goats against bacterial isolates with $\text{MIC} \leq 0,12 \mu\text{g/mL}$ and even for $\text{MIC} \leq 0,25 \mu\text{g/mL}$.

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.
- ABD EL-ATY, A.M., Y GOUDAH, A., 2002. Some pharmacokinetic parameters of pefloxacin in lactating goats. *Veterinary Research Communications* 26, 553-61.
- 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.
- 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):1979-89.
- ALIABADI, F.S., LEES, P., 2003. Pharmacokinetic-pharmacodynamic integration of danofloxacin in the calf. *Res Vet Sci.*; 74(3):247-59.
- ALIABADI, F.S., ALI, B.H., LANDONI, M.F., LEES, P., 2003a. Pharmacokinetics and PK-PD modelling of danofloxacin in camel serum and tissue cage fluids. *Vet J.*;165(2):104-18.
- ALIABADI, F.S., LANDONI, M.F., LEES, P., 2003b. Pharmacokinetics (PK), pharmacodynamics (PD), and PK-PD integration of danofloxacin in sheep biological fluids. *Antimicrob Agents Chemother*; 47(2):626-35.
- ALLON, M., LOPEZ, E.J., MIN, K.W., 1990. Acute renal failure due to ciprofloxacin. *Arch Intern Med*; 150:2187-9.
- ALOS, J. I., 2003. Quinolones. *Enferm.Infecc.Microbiol.Clin.* 21:261-267.

- AMINIMANIZANI, A., BERINGER, P., JELLIFFE, R., 2001. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of the newer fluorquinolone antibacterials. *Clinical Pharmacokinetics* 40, 169-187.
- ANDERSSON, M. I. Y MACGOWAN, A.P., 2003. Development of the quinolones. *J. Antimicrob. Chemother.* 51:1-11.
- ANDES, D. & CRAIG, W.A., 2002a. Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 19: 261-268.
- ANDES, D. & CRAIG, W.A., 2002b. Pharmacodynamics of the new fluoroquinolone gatifloxacin in murine thigh and lung infection models. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46, 1665–1670.
- ANDRIOLE, V.T., 1998. The quinolones prospects. In: Andriole, V.T. (Ed): *The Quinolones*. Academic Press, San Diego California, pp 417-29.
- APPELBAUM, P.C., 1995. Quinolone activity against anaerobes: microbiological aspects. *Drugs*;49(Suppl. 2):76–80.
- APPELBAUM, P.C., HUNTER, P.A., 2000. The fluorquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents* 16, 5-15.
- APPELBAUM, P. C., PANKUCH, G.A., BOZDOGAN, B., LIN, G., JACOBS, M.R., PATEL, M.V., GUPTE, S.V., JAFRI, M.A., DE SOUZA, N.J. Y KHORAKIWALA, H.F., 2005. Activity of the new quinolone WCK 771 against pneumococci. *Clin. Microbiol. Infect.* 11:9-14.
- ARAKI, H., OGAKE, N., MINAMI, S., WATANABE, Y., NARITA, H., TAMAI, I., TSUJI, A., 1997. Application of muscle microdialysis to evaluate the concentrations of the fluoroquinolones pazufloxacin and ofloxacin in the tissue interstitial fluids of rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 49, 1141–1144.
- ATABAY, H .I., AYDIN, F., 2001. Susceptibility of *Arcobacter butzleri* isolates to 23 antimicrobial agents. *Letters in Applied Microbiology*, 33 : 430 - 433.

- ATEF, M., EL-GHENDI, A.I., AZIZA, AMER, M.M, ABD EL-ATY, A.M., 2001. Some pharmacokinetic data for danofloxacin in healthy goats. *Veterinary Research Communications*, 25: 367 - 377.
- 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.
- AZANZA, J.R., SÁDABA, B., MEDIAVILLA, A. & FLÓREZ, J., 2003: *Quinolonas. Sulfamidas. Trimetoprima. Cotrimoxazol. Nitrofurantoina. Antisépticos*. En: *Farmacología humana*. 4º ed. Ed: Flórez J. Masson, S.A. Barcelona. pp: 1169-1186.
- 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., 1986. Ciprofloxacin: an overview of adverse experiments. *J Antimicrob Chemother* 18 (Suppl. D); 187-193.
- BALL, P., TILLOTSON, G., 1995. Tolerability of fluorquinolone anti-biotics: past, present and future. *Drug Saf*; 13: 343-58.
- BALL, P., 2000. Quinolone generations: natural history or natural selection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 46 (Suppl T1), 17-24.
- 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.
- BARUAH, H., ROY, DC., ROY, RK., KHONIKOR, HN., 2004. Pharmacokinetics, tissue residue and plasma protein binding of ofloxacin in goats. *J. Vet. Sci.* 5 (2): 97-101.

- BAUER, T. M., FOLLO, A., NAVASA, M., VILA, J., PLANAS, R., CLEMENTE, G., VARGAS, V., BORY, F., VAQUER, P. Y RODES, J., 2002. Daily norfloxacin is more effective than weekly rifloxacin in prevention of spontaneous bacterial peritonitis recurrence. *Dig.Dis.Sci.* 47:1356-1361.
- BAUERNFEIND, A., 1997. Comparison of the antibacterial activities of the quinolones Bay 12-8039, gatifloxacin (AM 1155), trovafloxacin, clinafloxacin, levofloxacin and ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother*; 40:639-51.
- BEBEAR, C.M., RENAUDIN, H., CHARRON, A., CLERC, M., PEREYRE, S., BEBEAR, C., 2003. DNA gyrase and topoisomerase IV mutations in clinical isolates of *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma hominis* resistant to fluoroquinolones. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47, 3323-3325.
- BERGOGNE-BEREZIN, E., 2002. Clinical role of protein binding of quinolones. *Clinical Pharmacokinetics* 41, 741-750.
- BERTINO, J.R., FISH, D., 2000. The safety profile of the fluorquinolones. *Clinical Pharmacokinetics* 41, 741-750.
- BIGGER, J.W., 1944. Pie bactericidal action of penicillin on *Stanhvlococcus pyogenes*. *J. Med. Sci.*, 227: 533-568.
- BLONDEAU, J.M., 2004. Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Surv.Ophthalmol.* 49 Suppl 2:S73-S78.
- BOUTHIER, D.L.T., PORTEMER, C., HUBER, R., FORTERRE, P. Y DUGUET, M., 1991. Reverse gyrase in thermophilic eubacteria. *J.Bacteriol.* 173:3921-3923.
- 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.
- BROWN, S.A., 1996. Fluorquinolones in animal health. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*; 19 1-14.
- BRYSKER, P., CHANTOT, J.F., 1995. Classification and structure-activity relationships of fluorquinolones. *Drug*; 49 (Suppl. 2): 16-28.
- BUTTS, J.D., 1994. Intracellular concentrations of antibacterial agents and related clinical implications. *Clinical Pharmacokinetics* 27, 63–84.
- BURGMANN, P., 2000. Antimicrobial Drug Use in Rodents, Rabbits, and Ferrets. En: *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 3ª ed. Ed: Prescott JF, Baggot JD y Walker RD, Blackwell Scientific Publications. Iowa. Pág: 674-675.
- CABANES, A., REIG,F., ANTÓN, J.M., ARBOIX, M.,1995. Sustained release of liposome-encapsulated enrofloxacin after intramuscular administration in rabbits.*Am J Vet Res.*;56(11):1498-501.
- CAPRONI JR L., UMEHARA, O., COSTA, E.O., BENITES, N.R., MELVILLE, P.A., RAEMDONCK, D., 2002. Clinical efficacy of danofloxacin 18% in the treatment of naturally occurring infectious diseases in cattle. *Arq. Inst. Biol.*; 69, (4),7-13.
- Cárceles, C.M., Serrano, J.M., Marín, P., Escudero, E., Fernández-Varón, E., 2006. Pharmacokinetics of moxifloxacin in rabbits after intravenous, subcutaneous and a long-acting poloxamer 407 gel formulation administration. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.*;53(6):300-4.
- CARRETERO, M., RODRIGUEZ, C., SAN ANDRES, M.I., FORES, P., DE LUCAS, J.J., NIETO, J., SAN ANDRES, M.D., GONZALEZ, F., 2002. Pharmacokinetics of marbofloxacin in mature horses after single intravenous and intramuscular administration. *Equine Veterinary Journal* 34, 360–365.

- 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.
- ÇETIN, C., SENTÜRK, S., KOCABIYIK, A.L., TEMIZEL, M., ÖZEL, E., 2003. Bacteriological Examination of Urine Samples from Dogs with Symptoms of Urinary Tract Infection. *Turk J Vet Anim Sci*; 27: 1225-1229.
- CHARLESTON, B., GATE, J.J., AITKEN, I.A., STEPHAN, B., FROYMAN, R., 1998. Comparison of the efficacies of three fluoroquinolone antimicrobial agents, given as continuous or pulsed-water medication, against *Escherichia coli* infection in chickens. *Antimicrob Agents Chemother.* ;42(1):83-7.
- 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.

- CIFTCI, A., FINDIK, A., IÇA, T., BAS, B., ONUK, E.E., GÜNGÖRDÜ, S., 2009. Slime production and antibiotic resistance of *Enterococcus faecalis* isolated from arthritis in chickens. *J Vet Med Sci.* ;71(6):849-53.
- COHEN, S.P., MCMURRY, L.M., LEVY, S.B., 1988. *marA* locus causes decreased expression of OmpF porin in multiple-antibiotic resistant (Mar) mutants of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*; 170: 5416-5422.
- COHEN, S.P., MCMURRY, L.M., HOOPER, D.C., WOLFSON, J.S. & LEVY S.B., 1989. Cross-resistance to fluoroquinolones in multiple-antibiotic-resistant (Mar) *Escherichia coli* selected by tetracycline or chloramphenicol: decreased drug accumulation associated with membrane changes in addition to OmpF reduction. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 33 (8): 1318-1325.
- COOPER, A.C., FULLER, J.R., FULLER, M.K., WHITTLESTONE, P., WISE, D.R., 1993. In vitro activity of danofloxacin, tylosin and oxytetracycline against mycoplasmas of veterinary importance. *Res Vet Sci.* ;54(3):329-34.
- 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., 2007. Allometric scaling of marbofloxacin, moxifloxacin, danofloxacin and difloxacin pharmacokinetics: a retrospective analysis. *J Vet Pharmacol Ther.*;30(5):381-6.
- CRAIG, W.A., GUDMUNDSSON, S., 1991. The postantibiotic effect. pp: 403-431. En Lorian 1'. (ed.). *Antibiotics in laboratory medicine*. 3th Ed., Williams and Wilkins, Baltimore.
- CRAIG, W.A., 1998. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical Infectious Diseases* 26, 1–10.
- 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.
- CULLEN, M.E., WYKE, A.W., KURODA, R. Y FISHER, L.M., 1989. Cloning and characterization of a DNA gyrase A gene from *Escherichia coli* that confers clinical resistance to 4-quinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33:886-894.
- CURTIS, L.H., OSTBYE, T., SENDERSKY, V., HUTCHISON, S., ALLEN LAPOINTE, N.M., AL KHATIB, S.M., USDIN, Y.S., DANS, P.E., WRIGHT, A., CALIFF, R.M., WOOSLEY, R.L., SCHULMAN, K.A., 2003. Prescription of QT-prolonging drugs in a cohort of about 5 million outpatients. *American Journal of Medicine* 114, 135–141.
- DAJCS, J.J., THIBODEAUX, B.A., MARQUART, M.E., GIRGIS, D.O., TRAIDEJ, M. & O`CALLAGHAN R.J., 2004: Effectiveness of ciprofloxacin, levofloxacin, or moxifloxacin for treatment of experimental *Staphylococcus aureus* keratitis. *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 48(6): 1948-1952.
- DALHOFF, A., ULLMANN, U., 1990. Correlation between pharmacokinetics, pharmacodynamics and efficacy of antibacterial agents in animal models. *Eur. J. Clin. Microbiol. infect. Dis.*, 9: 79-487.
- DÁMASO, D., 1990. *Antibacterianos*. Ed. Marketing Pharm, S.A. Madrid. Pág: 13-17 y 533-584.

- DAUTREY, S., FELICE, K., PETIET, A., LACOUR, B., CARBON, C., FARINOTTI, R., 1999. Active intestinal elimination of ciprofloxacin in rats: modulation by different substrates. *British Journal of Pharmacology* 127, 1728–1734.
- DAVIDSON, R., CAVALCANTI, R., BRUNTON, J.L., BAST, D.J., DE AZAVEDO, J.C., KIBSEY, P., FLEMING, P.C. Y LOW, D.C., 2002. Resistance to levofloxacin and failure of treatment of pneumococcal pneumonia. *N.Engl.J.Med.* 346:747-750.
- DAVIES, T.A., HOELLMAN, D., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1999. Activity of gemifloxacin (SB-265805) compared with other quinolones against quinolone-resistant *Haemophilus influenzae*. In: Proceedings of 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, Poster 1499.
- DAVIS, R., MARKHAM, A., BALFOUR, J.A., 1996. Ciprofloxacin: na updated review of its pharmacology, therapeutic efficacy and tolerability. *Durgs*; 51: 1019-74.
- 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.
- DEZIEL, M.R., LOUIS, A., HEINE, H., BUSH, K., KAO, M., KELLEY, M., DRUSANO, G.L., 2001. Evaluation of levofloxacin in a hollow fiber infection model against *Bacillus anthracis* utilizing both human and Rhesus Monkey pharmacokinetic profiles. Abstracts of the 41st Annual Meeting of the Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Abstract # A-1157, Chicago, IL.

- DOMAGALA, J.M., 1994: Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. *J. Antimicrob. Chemothe*; 33: 685-706.
- DOMÉNECH BERROZPE, J., MARTÍNEZ LANAO, J., PLÁ DELFINA, J.M., 1997. *Biofarmacia y Farmacocinética*. Ed. Síntesis S.A., Madrid. Volumen 1. Páginas: 35, 94-95 y 278.
- 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.
- DUBOIS, J., ST-PIERRE, C., 1999. In vitro activity of gatifloxacin, compared with ciprofloxacin, clarithromycin, erythromycin, and rifampin against *Legionella spp.* *Diagn Microbiol Infect Dis*; 33:261-5.
- DRLICA, K., 1999. Mechanism of fluoroquinolone action. *Curr. Opin. Microbiol.* 2:504-508.
- DRLICA, K. & ZHAO, X., 1997. DNA gyrase, topoisomerase IV and the 4-quinolones. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 61, 377-92.
- 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.
- EAGLE, U., MUSSELMAN, A.D., 1949. Pie slow recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin. *J. Bacteriol*, 58: 475-490.
- EDNIE, L.M., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1997. Comparative activities of clinafloxacin against gram-positive and -negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemothe*; 42:1269-73.

- EDNIE, L.M., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1998. Activities of gatifloxacin compared to those of seven other agents against anaerobic organisms. *Antimicrob Agents Chemother*;42:2459–62. *American Journal of Veterinary Research*, 63 (7): 1012-1017.
- 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. *Can J Vet Res.*;65 (1):64-7.
- EL-BANNA, HA. Y ABO-EL-SOUD, K., 1998. Disposition kinetics of ciprofloxacin in lactating goats. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 105: 35-38.
- EMMERSON, A.M. & JONES, A.M., 2003. The quinolones: decades of development and use. *J. Antimicrob. Chemother.* 51(S1): 13–20.
- ESCUADERO, E., ESPUNY, A., VICENTE, S., CÁRCELES, CM., 1999. Pharmacokinetics of an ampicillin-sulfactam combination after intravenous and intramuscular administration to sheep. *Canadian Journal of Veterinary Research* 63 (1), 25-30.
- ESCUADERO, E., CÁRCELES, CM., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., MARÍN, P., BENCHAOUI, H., 2007. Pharmacokinetics of danofloxacin 18% in lactating sheep and goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 30: 572-577.
- ESCUADERO, E., MARÍN, P., CÁRCELES, C.M., RAMÍREZ, M.J., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., 2011. Pharmacokinetic and milk penetration of a difloxacin long-acting poloxamer gel formulation with carboxy-methylcellulose in lactating goats. *Vet J. Apr*;188(1):92-5.
- ESPOSITO, S., GALANTE, D., BARBA, D., GIUSTI, R., BIANCHI, W., GAGLIARDI, R., 1988. Efficacy and safety of ciprofloxacin in the treatment of UTIs and RTIs in patients affected by liver diseases. *Infection*, 16 (suppl. 1): 57-61.

- EVERETT, M.J., JIN, Y.F., RICCI, V., PIDDOCK, L.J., 1996. Contributions of individual mechanisms to fluoroquinolone resistance in 36 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40, 2380–2386.
- FANG, W. Y PYÖRÄLÄ S., 2006. Mastitis-causing *Escherichia Coli*: serum sensitivity and susceptibility to selected antimicrobials in milk. *Journal of Dairy Science* 79 (1),pp. 76-82.
- FELMINGHAM, D., O'HARE, M.D., ROBBINS, M.J. Y COLS., 1985. Comparative in vitro studies with 4-quinolone antimicrobials. *Drugs Exp Clin Res*;11:317–29.
- FELMINGHAM, D., ROBBINS, M.J., LEAKEY, A. Y COLS., 1999. In vitro activity of moxifloxacin (BAY 12-8039), a novel 8-methoxyquinolone, compared with ofloxacin and other antibiotics. In: Adam D, Finch R, Hunter P, editors. *Moxifloxacin in Practice*, vol. 2. Oxford: Maxim Medical,:27–37.
- FERNANDES, P.B., 1988. Mode of action, and in vitro and in vivo activities of the fluorquinolones. *J Clin Pharmacol*; 28: 156-68.
- FERNÁNDEZ-VARÓN, E., AYALA, I., MARÍN, P., CARRIÓN, A., MARTOS, N., ESCUDERO, E., CÁRCELES, C.M., 2006A. Pharmacokinetics of danofloxacin in horses after intravenous, intramuscular and intragastric administration. *Equine Vet J*.;38(4):342-6.
- FERNÁNDEZ-VARÓN, E., VILLAMAYOR, L., ESCUDERON, E., ESPUNY, A., CÁRCELES, C.M., 2006b. Pharmacokinetics and milk penetration of moxifloxacin after intravenous and subcutaneous administration to lactating goats. *The Veterinary Journal* 172, 302-7.
- 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., 2007. Pharmacokinetics-pharmacodynamic integration of danofloxacin after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration to rabbits. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 30, 18-24.
- FICHA TÉCNICA ADVOCIN® 180 mg/ml, Solución Inyectable para Bovino. Última actualización en Marzo 2009.
- FICHA TÉCNICA ADVOCIN® 25 mg/ml, Solución Inyectable. Última actualización en Junio 2008.
- FINK, M.P., SNYDMAN, D.R., NIEDERMAN, M.S. Y COLS., 1994. Treatment of severe pneumonia in hospitalized patients: results of a multicenter, randomized, double-blind trial comparing intravenous ciprofloxacin with imipenem-cilastatin. *Antimicrob Agents Chemother*; 38: 547-57.
- FISH, D.N., 2001. Fluoroquinolone adverse effects and drug interactions. *Pharmacotherapy*, 21(10 Pt 2): 253S-272S.
- FORREST, A., NIX, D.E., BALLOW, C.H., GOSS, T.F., BIRMINGHAM, M.C., SCHENTAG, J.J., 1993. Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 37, 1073–1081.
- FRIIS C., 1993. Penetration of danofloxacin into the respiratory tract tissues and secretions in calves. *Am J Vet Res.*;54(7):1122-7.
- 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.

- GHARAIBEH, S., AL RIFAI, R., AL-MAJALI, A., 2010. Molecular typing and antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* from broiler chickens. *Anaerobe.*;16(6):586-9. Epub 2010 Oct 20.
- GARCIA, M.A., SOLANS, C., ARAMAYONA, J.J., RUEDA, S., BREGANTE, M.A., 2000. Development of a method for the determination of danofloxacin in plasma by HPLC with fluorescence detection. *Biomed Chromatogr.* ;14(2):89-92.
- 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-azetidinyl tricyclic fluorquinolone. *Antimicrob Agents Chemother*; 35: 442-7.
- GEHRING, R. Y SMITH, G.W., 2006. An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparation used to treat bovine mastitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 29 (4),pp. 237-241.
- GELLERT, M., MIZUUCHI, K., O'DEA, M.H. Y NASH, H.A., 1976. DNA gyrase: an enzyme that introduces superhelical turns into DNA. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 73:3872-3876.
- GEORNARAS, I., HASTINGS, J.W., VON HOLY, A., 2001. Genotypic Analysis of *Escherichia coli* Strains from Poultry Carcasses and Their Susceptibilities to Antimicrobial Agents. *Appl Environ Microbiol.* ; 67(4): 1940–1944.
- GEORNARAS, I., VON HOLY, A., 2001. Antimicrobial susceptibilities of isolates of *Staphylococcus aureus*, *Listeria* species and *Salmonella* serotypes associated with poultry processing. *Int J Food Microbiol.* ;70(1-2):29-35.
- Gharaibeh, S., Al Rifai, R., Al-Majali, A., 2010. Molecular typing and antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* from broiler chickens. *Anaerobe.*;16(6):586-9.
- GIBALDI, M. & PERRIER, P., 1982. *Pharmacokinetics* 2nd ed. Marcel Dekker. New York.

- GILES, C.J., GRIMSHAW, W.T., SHANKS, D.J., SMITH, D.G., 1991. Efficacy of danofloxacin in the therapy of acute bacterial pneumonia in housed beef cattle. *Veterinary Record*;128:296-300 doi:10.1136/vr.128.13.296
- GIRAUD, E., CLOECKAERT, A., KERBOEUF, D. & CHASLUS-DANCLA, E., 2000. Evidence for active efflux as the primary mechanism of resistance to ciprofloxacin in *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. *Antimicrob Agents Chemother* 44, 1223–1228.
- GOBERNADO, M. Y SANTOS, M., 1988. Fluorquinolonas: estructura, actividad in vitro, mecanismo de acción y resistencia. *Medicine.*, pág. 33-40.
- GOBERNADO, M., 2001. Farmacocinética y farmacodinamia de las fluoroquinolonas. Relación con la actividad y la selección de mutantes resistentes. *Med. Clin.*, 2(2): 21-28.
- GOBERNADO, M. & SANTOS, M., 2002. Quinolonas En: Tratamiento antimicrobiano. 3º ed. Ed: Drobnic L.Ergon. Madrid. Pág: 323- 348.
- GODINHO, K., BENCHAOUI, H.A., TILT, N., RAMAGE, C., QUIRIE, M., DONACHIE, W., DE LA PUENTE-REDONDO, V., ROWAN, T.G., 2007. Efficacy of danofloxacin in the treatment of pneumonic pasteurellosis in specific pathogen-free lambs. *Vet Rec.*;160(22):770-1.
- GOLDSTEIN, E.J.C., CITRON, D.M., WARREN, Y., TYRRELL, K., MERRIAM, C.V., 1999. In vitro activity of gemifloxacin (SB 265805) against anaerobes. *Antimicrob Agents Chemother*;43:2231–5.
- GOOTZ, T.D., BARRETT, J.F., SUTCLIFFE, J.A., 1990. Inhibitory effects of quinolone antibacterial agents on eukaryotic topoisomerases and related test systems. *Antimicrob Agents Chemother*; 34: 8-12.
- GOOTZ, T.D. & BRIGHTY, K.E., 1996. Fluorquinolone antibacterials: SAR mechanism of action, resistance and clinical aspects. *Medicinal Research Reviews* 16, 433-486.
- GOOTZ, T.D., BRIGHTY, K.E., 1998. Chemistry and mechanism of action of the quinolone antibacterials. In: Andriole, V.T. (Ed): *The quinolones*. Academic Press, San Diego, California, pp 29-80.

- GOUDAH, A., MOUNEIR, S.M., 2009. Disposition kinetics and tissue residues of danofloxacin in Muscovy ducks. *Br Poult Sci.*;50(5):613-9.
- 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.
- GRIMSHAW, W.T., GILES, C.J., COOPER, A.C., SHANKS, D.J., 1990. The efficacy of danofloxacin in the therapy of pneumonia associated with *Pasteurella* species in housed calves. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* ;97(12):529-32.
- 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 azetidinyl 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. [Epub ahead of print]
- 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 Quimioterpa. Septiembre. Vol. 17 (Nº 3): 232-243.
- HANNAN, P.C., WINDSOR, G.D., DE JONG, A., SCHMEER, N., STEGEMANN, M., 1997. Comparative susceptibilities of various animal-pathogenic mycoplasmas to fluoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother.;41(9):2037-40.
- HARITOVA, A.M., RUSENOVA, N.V., PARVANOV, P.R., LASHEV, L.D., FINK-GREMMELS, J., 2006. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of danofloxacin in turkeys. Vet Res Commun.;30(7):775-89.
- HAYEM, G., CARBON, C., 1995. A reappraisal of quinolone tolerability: the experience of their musculoskeletal adverse effects. Drug Saf; 13: 338-42.
- HEDDLE, J.G., BARNARD, F.M., WENTZELL, L.M. Y MAXWELL, A., 2000. The interaction of drugs with DNA gyrase: a model for the molecular basis of quinolone action. Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids 19:1249-1264.
- HEESSEN, F.W., MUYTJENS, H.L., 1984. In vitro activities of ciprofloxacin, norfloxacin, pipemidic acid, cinoxacin, and nalidixic acid against *Chlamydia trachomatis*. Antimicrob Agents Chemother;25:123-4.
- HEISIG, P., 1996. Genetic evidence for a role of parC mutations in development of high-level fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother; 40: 879-855.
- HIGGINS, P.G., FLUIT, A.C. Y SCHMITZ, F.J., 2003. Fluoroquinolones: Structure and target sites. Current Drug Targets 4:181-190.
- HO, P.L., QUE, T.L., TSANG, D.N.C., NG, T.K., CHOW, K.H., SETO, W.H., 1999. Emergence of fluoroquinolone resistance among multiply resistant strains of *Streptococcus pneumoniae* in Hong Kong. Antimicrob Agents Chemother;43:1310-3.
- HOELLMAN, D.B., LIN, G., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1999. Anti-pneumococcal activity of gatifloxacin compared with other quinolone and non-quinolone agents. J Antimicrob Chemother; 43:645-9.

- HOOPER, D.C., 1998. Bacterial topoisomerases, anti-topoisomerases, and antitopoisomerase resistance. *Clin.Infect.Dis.* 27 Suppl 1:S54-S63.
- HOOPER, D.C., 2000. Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. *Clin.Infect.Dis.* 31:S24-S28.
- HOOPER, D.C. Y WOLFSON, J.S., 1985. The fluoroquinolones: pharmacology, clinical uses, and toxicities in humans. *Antimicrob.Agents Chemother.* 28:716-721.
- HUEBSCHLE, O.J., AYLING, R.D., GODINHO, K., LUKHELE, O., TJIPURAZAIRE, G., ROWAN, T.G., NICHOLAS, R.A., 2006. Danofloxacin (Advocin) reduces the spread of contagious bovine pleuropneumonia to healthy in-contact cattle. *Res Vet Sci.* ;81(3):304-9.
- HYOUNG-RYUN, P., TAE HEUNG, K., KI-MIN, B., 2002. Physicochemical properties of quinolone antibiotics in various environments. *Eur. J. Med. Chem.* 27; 443-360.
- IBRAHIM, K.H., HOVDE, L.B., ROSS, G., GUNDERSON, B., WRIGHT, D.H., ROTSCHAFFER, J.C., 2002. Microbiologic effectiveness of time- or concentration-based dosing strategies in *Streptococcus pneumoniae*. *Diagnostic Microbiology Infectious Diseases* 44, 265–271.
- 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.
- IHRKE, P.J., PAPICH, M.G., & DEMANUELLE, C., 1999. The use of fluoroquinolones in veterinary dermatology. *Veterinary Dermatology*, 10(3): 193-204.
- INTORRE, L., MENGOZZI, G., MACCHERONI, M., BERTINI, S., SOLDANI, G., 1994. Influence of enrofloxacin on theophylline steady-state serum concentration in the dog [poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology, Edinburgh, Scotland.*; p.100.

- INUI, T., TAIRA, T., MATSUSHITA, T., ENDO, T., 1998. Pharmacokinetic properties and oral bioavailabilities of difloxacin in pig and chicken. *Xenobiotica* 28, 887–893.
- ISMAIL, M., 2006. A pharmacokinetic study of danofloxacin in febrile goats following repeated administration of endotoxin. *J Vet Pharmacol Ther.*;29(4):313-6.
- JACOBS-REITSMA, W.F., KAN, C.A., BOLDER, N.M., 1994. The induction of quinolone resistance in *Campylobacter* bacteria in broilers by quinolone treatment. *Letters in Applied Microbiology*; 9 (4): 228-231.
- JACOBY, G.A., 2005. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clinical Infectious Diseases*; 41: S120-6.
- 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.
- JONES, R.B., VAN DER POL, B., JOHNSON, R.B., 1997. Susceptibility of *Chlamydia trachomatis* to trovafloxacin. *J Antimicrob Chemother*;39(Suppl. B):63–5.
- JONES, M.E., CRITCHLEY, I.A., KARLOWSKY, J.A., BLOSSER-MIDDLETON, R.S., SCHMITZ, F.J., THORNSBERRY, C. Y SAHM, D.F., 2002. In vitro activities of novel nonfluorinated quinolones PGE 9262932 and PGE 9509924 against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* with defined mutations in DNA gyrase and topoisomerase IV. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:1651-1657.
- JOHNSTON, T.P., PUNJABI, M.A., FROELICH, C.J., 1992. Sustained delivery of interleukin-2 from a poloxamer 407 gel matrix following intraperitoneal injection in mice. *Pharm Res.*;9(3):425-34.

- KAMALI, F., ASHTON, C.H., MARSH, V.R., COX, J., 1998. Assessment of the effects of combination therapy with ciprofloxacin and fenbufen on the central nervous systems of healthy volunteers by quantitative electroencephalography. *Antimicrob Agents Chemother*; 42: 1256-8.
- KARABLUT, N., DRUSANO, G.L., 1993. Pharmacokinetics of the quinolone antimicrobial agents. In: Hooper, D.C., Wolfson, J.S. (Eds.), *Quinolone Antimicrobial Agents*. American Society for Microbiology, Washington, DC, pp. 195–223.
- KATO, J., NISHIMURA, Y., IMAMURA, R., NIKI, H., HIRAGA, S. & SUZUKI, H., 1990. New topoisomerase essential for chromosome segregation in *E. coli*. *Cell* 63, 393-404.
- KATSUDA, K., KOHMOTO, M., MIKAMI, O., Uchida, I. , 2009. Antimicrobial resistance and genetic characterization of fluoroquinolone-resistant *Mannheimia haemolytica* isolates from cattle with bovine pneumonia. *Vet Microbiol.* ;139(1-2):74-9.
- KEMPF, I., GESBERT, F., GUITTET, M., BENNEJEAN, G., COOPER, A.C., 1992. Efficacy of danofloxacin in the therapy of experimental mycoplasmosis in chicks. *Res Vet Sci.* ;53(2):257-9.
- KIM, B., MIN, K., CHOI, C., CHO, W.S., CHEON, D.S., KWON, D., KIM, J., CHAE C., 2001. Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs in Korea using new standardized procedures. *J Vet Med Sci.* ;63(3):341-2.
- KING, D. E., MALONE, R.Y LILLEY, S.H., 2000. New classification and update on the quinolone antibiotics. *Am.Fam.Physician* 61:2741-2748.
- KITAMURA, A., HOSHINO, K., KIMURA, Y., HAYAKAWA, I., SATO, K., 1995. Contribution of the C-8 substituent of DU-6859a, a new potent fluoroquinolone, to its activity against DNA gyrase mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*;39:1467–71.

- KNOLL, U., GLÜNDER, G., KIETZMANN, M., 1999. Comparative study of the plasma pharmacokinetics and tissue concentrations of danofloxacin and enrofloxacin in broiler chickens. *J Vet Pharmacol Ther.*;22(4):239-46.
- KNUPP, C.A., BARBHAIYA, RH., 1997. A multiple-dose pharmacokinetic drug interaction study between didanosine (Videx) and ciprofloxacin (Cipro) in male subjects seropositive for HIV but asymptomatic. *Biopharm Durg Dispos*; 18: 65-77.
- 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.
- KUM, C., GOKBULUT, C., SEKKIN, S., BOYACIOGLU, M., 2008. Pharmacokinetics of danofloxacin following intravenous and intramuscular administration in donkeys. *J Vet Pharmacol Ther.*;32(1):105-8.
- LAURITZEN, B., LYKKESFELDT, J., FRIIS, C., 2003. Evaluation of a single dose versus a divided dose regimen of danofloxacin in treatment of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs. *Res Vet Sci.*;74(3):271-7.
- LEDOUSSAL, B., ALMSTEAD, J.K., FLAIM, C.P., 1999. Novel fluorquinolone, structure-activity and design of new potent and safe agents. 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco; F-544.
- LEES, P. & SHOJAEI ALIABADI, F.S., 2002a. Rational dosing of antimicrobial drugs: animals versus humans. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 19: 269-284.
- LEES, P. & ALIABADI, F.S., 2002b. Antimicrobianos que inhiben la función de los ácidos nucleicos. En: *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Eds: Botana LM, Landoni F, Martín-Jiménez T. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid. Pág: 484-488.
- LIETMAN, P.S., 1995. Fluorquinolone toxicities: an update. *Drugs*; 49 (Suppl. 2): 159-63.
- LINDECORONA, R.H., FRIIS, C., NIELSEN, J.P., 2000. Pharmacokinetics and penetration of danofloxacin into the gastrointestinal tract in healthy and in *Salmonella typhimurium* infected pigs. *Res Vet Sci.* ;68(3):211-6.

- LIPSKY, B.A., BARKER, C.A., 1999. Fluorquinolone toxicity profiles: A review focusing on newer agents. *Clin Infect Dis*; 28: 352-364.
- LODE, H., BORNER, K., KOEPPE, P., 1998. Pharmacodynamics of fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases* 27, 33–39.
- LOMAESTRO, B.M., BAILIE, G.R., 1991. Quinolone-cation interactions: A review. *DICP. Ann Pharmacother*; 25: 1249-1258.
- LONGER, M.A. Y ROBINSON, J.R., 1987. Sistema de liberación sostenida de fármacos. En Remington Farmacia 17ªed. Panamericana. Buenos Aires. Pp 2240-2264.
- LOWY, F D., 1998. *Staphylococcus aureus* infections. *NEJM*; 339:520-32.
- LUBASCH, A., KELLER, I., BORNER, K., KOEPPE, P. & LOFE, H., 2000. Comparative pharmacokinetics of ciprofloxacin, gatifloxacin, grepafloxacin, levofloxacin, trovafloxacin and moxifloxacin after single oral administration in healthy volunteers. *Antimicrob. Agents Chemoter.* 44(10): 2600-2603.
- LYNCH, M.J., RICE, J.R., ERICSON, J.F., MOSHER, F.R., MILLAS, W.J., HARRAN, L.P., FRAME, G.M., 1994. Residue Depletion Studies on Danofloxacin in the Chicken. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 289-294
- MA, D., COOK, D.N., ALBERTI, M., PON, N.G., KIKAIDO, H., HEARST, J.E., 1995. Genes *acrA* and *acrB* encode a stress-induced efflux system of *Escherichia coli*. *J Mol Microbiol*; 16: 45-55.
- MACGOWAN, A.P., BOWKER, K.E., HOLT, H.A., WOOTTON, M., REEVES, D.S., 1997. Bay 12-8039, a new methoxy-quinolone: comparative in-vitro activity with nine other antimicrobials against anaerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother*;40:503–9.
- MACGOWAN, A.P., ROGERS, C.A., HOLT, H.A., WOOTON, M., BOWKER, K.E., 2001. Pharmacodynamics of gemifloxacin against *Streptococcus pneumoniae* in an in vitro pharmacokinetic model of infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45, 2916–2921.

- MACGOWAN, A., BOWKER, K., 2002. Developments in PK/PD: optimising efficacy and prevention of resistance. A critical review of PK/PD in in vitro models. *International Journal of Antimicrobial Agents* 19, 291–298.
- MAHMOOD, I., 2001. Application of preclinical data to initiate the modified continual reassessment method for maximum tolerated dose-finding trials. *Journal of Clinical Pharmacology* 41, 19–24.
- MANN, D.D., FRAME, G.M., 1992. Pharmacokinetic study of danofloxacin in cattle and swine. *American Journal of Veterinary Research* 53, 1022–1026.
- MANDELL, L.A., BALL, P. & TILLOTSON, G., 2001. Antimicrobial safety and tolerability: differences and dilemmas. *Clin. Infect. Dis.*, 15;32 (1): S72-9.
- 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.
- MARÍN, P., ESCUDERO, E., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., CÁRCELES, CM., 2007a. 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., 2007b. Pharmacokinetics after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration of difloxacin in sheep. *Research in Veterinary Science* 83, 234-238.
- MARÍN, P., CÁRCELES, CM., ESCUDERO, E., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., 2007c. 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., 2007d. Pharmacokinetics and milk penetration of orbifloxacin after intravenous, subcutaneous, and intramuscular administration to lactating goats. *American Dairy Science Association*, 90:4219-4225.

- MARÍN, P., BAYÓN, A., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., ESCUDERO, E., CLAVEL, C., ALMELA, R., CÁRCELES, C.M., 2008. Pharmacokinetics of danofloxacin after single dose intravenous, intramuscular and subcutaneous administration to loggerhead turtles *Caretta caretta*. *Dis Aquat Organ.*;82(3):231-6.
- 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.*;93(11):5243-5.
- MARTINEZ-MARTINEZ, L., PASCUAL, A. Y JACOBY, G.A., 1998. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 351:797-799.
- MARTINEZ, M., MCDERMOTT, P., WALKER, R., 2006. Pharmacology of the fluorquinolones: a perspective for the use in domestic animals. *The Veterinary Journal* 172; 10-28.
- MATSUO, H., RYU, M., NAGATA, A. Y COLS., 1998. Neurotoxicodynamics of the interaction between ciprofloxacin and foscarnet in mice. *Antimicrob Agents Chemother*; 42: 691-4.
- MAXWELL, A., 1997. DNA gyrase as a drug target. *Trends Microbiol.* 5:102-109.
- MAXWELL, A., CRITCHLOW, S.E., 1998. Mode of action. In: Kuhlman, J., Zeiler, H.J. (Eds.), *Quinolone Antibacterials*. Springer, Berlin, pp. 119–166.
- MERCK VETERINARY MANUAL, 1998. Quinolones. In: Aiello, S., Mays, A. (Eds), Title. Merck & Co., Whitehouse Station, NJ, pp. 1761-1765.
- 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.
- 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.
- 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.F., MCCORMACK, R.Z., 1998. Pharmacokinetics and tissue disposition of danofloxacin in sheep. *Biopharmaceutics and Drug Disposition* 19, 123–129.
- MCKELLAR, Q., GIBSON, I., MONTEIRO, A., BREGANTE, M.,1999. Pharmacokinetics of enrofloxacin and danofloxacin in plasma, inflammatory exudate, and bronchial secretions of calves following subcutaneous administration. *Antimicrob Agents Chemother.*;43(8):1988-92.
- MESTORINO, N., MARCHETTI, M.L., TURIC, E., PESOA, J., ERRECALDE, J., 2009. Concentrations of danofloxacin 18% solution in plasma, milk and tissues after subcutaneous injection in dairy cows. *Anal Chim Acta.*;637(1-2):33-9.
- 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.

- MIGAKI, T.T., AVAKIAN, A.P., BARNES, H.J., LEY, D.H., TANNER, A.C., MAGONIGLE, R.A., 1993. Efficacy of danofloxacin and tylosin in the control of mycoplasmosis in chicks infected with tylosin-susceptible or tylosin-resistant field isolates of *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Dis.* ;37(2):508-14.
- MORSHED, R., PEIGHAMBARI, S.M., 2010. Drug resistance, plasmid profile and random amplified polymorphic DNA analysis of Iranian isolates of *Salmonella enteritidis*. *New Microbiol.* ;33(1):47-56.
- 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.

- 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.
- NEWA, M., BHANDARI, K.H., OH, D.H., KIM, Y.R., SUNG, J.H., KIM, J.O., WOO, J.S., CHOI, H.G., YONG, C.S., 2008. Enhanced dissolution of ibuprofen using solid dispersion with poloxamer 407. *Arch Pharm Res.* ;31(11):1497-507.
- 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.
- NIGHTINGALE, C.H., GRANT, E.M., QUINTILIANI, R., 2000. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of levofloxacin. *Chemotherapy* 46 (Suppl 1), 6–14.
- NIKAIDO, H. & THANASSI, D.G., 1993: Penetration of lipophilic agents with multiple protonation sites into bacterial cells: tetracyclines and fluoroquinolones as examples. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 37(7): 1393–1399.
- NIKAIDO, H., 1996. Multidrug efflux pumps of gram-negative bacteria. *J Bacteriol*; 178: 5853-5859.

- NIKAIDO, H., ZGURSKAYA, H.I., 2001. AcrAB and related multidrug efflux pumps of *Escherichia coli*. *J Mol Microbiol Biotechnol*; 3: 215-218.
- NORD, C.E., 1995. Effect of quinolones on the human intestinal microflora. *Drug*; 49 (Suppl. 2): 81-5.
- NORRBY, S.R., 1991. Side effects of quinolones: comparisons between quinolones and other antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 10:378-83.
- OKAZAKI, O., KOJIMA, C., HAKUSUI, H., NAKASHIMA, M., 1991. Enantioselective disposition of ofloxacin in humans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 35, 2106–2109.
- OLIPHANT, C.M. Y GREEN, G.M., 2002. Quinolones: a comprehensive review. *Am.Fam.Physician* 65:455-464.
- ORERO, A., CANTÓN, E., PEMÁN, J. & GOBERNADO, M., 2002: Penetración de los antibióticos en los polimorfonucleares humanos, con especial referencia a las quinolonas. *Rev. Esp. Quimioterap.* 15(2).
- OTERO, J.L., MESTORINO, N., ERRECALDE, J.O., 2001a. Enrofloxacin: una fluorquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte I: Química, mecanismo de acción, actividad antimicrobiana y resistencia bacteriana. *Analecta Veterinaria* 21, 1:31-41.
- OTERO, J.L., MESTORINO, N., ERRECALDE, J.O., 2001b. Enrofloxacin: una fluorquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte II: Farmacocinética y toxicidad. *Analecta Veterinaria* 21, 1:42-49.
- OWENS, J.R., AMBROSE, P.G., 2002. Pharmacodynamics of quinolones. In: Nightingale, C.H., Murakawa, T., Owens Jr., R.C. (Eds.), *Antimicrobial Pharmacodynamics in Theory and Clinical Practice*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 155–176.
- OWENS, J.R., AMBROSE, P.G., 2002b. Torsades de pointes associated with fluoroquinolones. *Pharmacotherapy* 22, 663–668.
- OZAWA, M., BABA, K., SHIMIZU, Y., ASAI, T., 2010. Comparison of in vitro activities and pharmacokinetics/pharmacodynamics estimations of veterinary

- fluoroquinolones against avian pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Microb Drug Resist.*;16(4):327-32.
- OZDEMIR, U., LORIA, G.R., GODINHO, K.S., SAMSON, R., ROWAN, T.G., CHURCHWARD, C., AYLING, R.D., NICHOLAS, R.A., 2006. Effect of danofloxacin (Advocin A180) on goats affected with contagious caprine pleuropneumonia. *Trop Anim Health Prod.*; 38(7-8):533-40.
- 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.
- PARMAR KOMAL R, SATAPARA VIJAY P, SHAH SUNNY R, SHETH NAVIN R., 2011. Improvement of dissolution properties of lamotrigine by inclusion complexation and solid dispersion technique. *Pharmazie.* ;66(2):119-23.
- 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).
- PENZHORN, B.L., LEWIS, B.D., LÓPEZ-REBOLLAR, L.M., SWAN, G.E., 2000. Screening of five drugs for efficacy against *Babesia felis* in experimentally infected cats. *J S Afr Vet Assoc.* ;71(1):53-7.
- PETERSON, L.R., 2001. Quinolone molecular structure-activity relationships: What we have learned about improving antimicrobial activity. *Clin.Infect.Dis.* 33:S180-S186.

- PHILLIPS, I., KING, A., SHANNON, K., 1998. In vitro properties of the quinolones. In: Andriole, V.T. (Ed): The Quinolones. Academic Press, San Diego, California, pp 81-116.
- PIDDOCK, L.J., 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.
- PLA, J.M. & OBACH, R., 1982. PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS CON SU FUNDAMENTO FARMACOLÓGICO. (dir: J. Esplugues). *Farmacología general*. Fundación García Muñoz. Valencia. 7: 19-54.
- PLA, J.M. & POZO, A. del, 1974: MANUAL DE INICIACIÓN A LA BIOFARMACIA (Farmacocinética aplicada). Romargraf. Barcelona.
- POOLE, K., KREBES, K., MCNALLY, C., NESHAT, S., 1993. Multiple antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Evidence for involvement of an efflux operon. *J Bacteriol*; 175: 7363-7372.
- POOLE, K., 2000. Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in gram-negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44, 2233–2241.

- POUTREL, B., STEGEMANN, M.R., ROY, O., POTHIER, F., TILT, N., PAYNE-JOHNSON, M., 2008. Evaluation of the efficacy of systemic danofloxacin in the treatment of induced acute *Escherichia coli* bovine mastitis. *J Dairy Res.*; 75(3):310-8.
- 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.
- 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.
- RAEMDONCK, D.L., TANNER, A.C., TOLLING, S.T., MICHENER, S.L., 1992. In vitro susceptibility of avian *Escherichia coli* and *Pasteurella multocida* to danofloxacin and five other antimicrobials. *Avian Dis.*;36(4):964-7.
- RAEMDONCK, D.L., TANNER, A.C., TOLLING, S.T., MICHENER, S.L., 1994. Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Salmonella choleraesuis* isolates from pigs. *Vet Rec.* ;134(1):5-7.
- RAMESH, S., RAO, G.S., MALIK, J.K., 2002. Pharmacokinetic disposition of subcutaneously administered enrofloxacin in goats. *Veterinary Research Communications*, 26: 563-569.
- READ, R.C., MORRISSEY, I., AMBLER, J.E., 2000. *Clinicians manual on respiratory tract infections and fluorquinolones*. Scienc Press, London UK.
- REAL, R., EGIDO, E., PÉREZ, M., GONZÁLEZ-LOBATO, L., BARRERA, B., PRIETO, J.G., ALVAREZ, A.I., MERINO, G., 2010. Involvement of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in the secretion of danofloxacin into milk: interaction with ivermectin. *J Vet Pharmacol Ther.* doi: 10.1111/j.1365-2885.2010.01241.x.

- 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.
- 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.
- 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.*;8(5):509-34.
- 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.

- 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.
- ROWAN, T.G., SARASOLA, P., SUNDERLAND, S.J., GILES, C.J., SMITH, D.G., 2004. Efficacy of danofloxacin in the treatment of respiratory disease in European cattle. *Vet Rec.* ;154(19):585-9.
- RUBINSTEIN, E., 2001. History of quinolones and their side effects. *Chemotherapy*, 47 (Suppl3):3-8.
- SÁNCHEZ DIAZ, P., 2003. Sistemas MDR y resistencia a los antimicrobianos. *Revis. Española de Quimioterapia*. Vol.16 (Nº 2): 172-187.
- SAPPAL, R., CHAUDHARY, R.K., SANDHU, H.S., SIDHU, P.K., 2009. Pharmacokinetics, urinary excretion and plasma protein binding of danofloxacin following intravenous administration in buffalo calves (*Bubalus bubalis*). *Vet Res Commun.*; 33(7):659-67.
- SARASOLA, P., LEES, P., ALIABADI, F.S., MCKELLAR, Q.A., DONACHIE, W., MARR, K.A., SUNDERLAND, S.J., ROWAN, T.G., 2002. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles of danofloxacin administered by two dosing regimens in calves infected with *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*. *Antimicrob Agents Chemother.*;46(9):3013-9.
- SÁRKÖZY, G., 2001. Quinolones: a class of antimicrobial agents. *Vet. Med.- Czech*, 46 (9-10). 257-274.
- SCHAEFLER, S., 1989. Methicilin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* resistant to quinolones. *J Clin Microbiol.*; 27: 335-6.
- SCHENTAG, J.J., SCULLY, B.E., 1999. Antimicrobial therapy and vaccines. In: Yu VL, Merigan TC Jr, Barriere SL, eds. *Quinolones*. Baltimore: Williams & Wilkins, 875-901.
- SCHMITZ, F. J., HIGGINS, P.G., MAYER, S., FLUIT, A.C. Y DALHOFF, A., 2002. Activity of quinolones against gram-positive cocci: Mechanisms of drug action and bacterial resistance. *Eur. J Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 21:647-659.

- 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.
- SHEM-TOV, M., ZIV, G., GLICKMAN, A., SARAN, A., 1997. Pharmacokinetics and penetration of danofloxacin from the blood into the milk of ewes. *Vet Res.*;28(6):571-9.
- SHEM-TOV, M., RAV-HON, O., ZIV, G., LAVI, E., GLICKMAN, A., SARAN, A., 1998. Pharmacokinetics and penetration of danofloxacin from the blood into the milk of cows. *J Vet Pharmacol Ther.*;21(3):209-13.
- 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.
- 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.
- STAHLMANN, R., 1990. Safety profile of the quinolones. *J Antimicrob Chemother* 26 (Supple D): 31-44.
- 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.

- 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.
- 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.
- SUMANO, L.H., 1993. Quinolonas y fluorquinolonas en medicina veterinaria. *Veterinaria México*; 24 (2): 83-92.
- SUMANO, L.H., GUTIERREZ, O.L. Y ZAMORA, Q.M., 2003. Strategic administration of enrofloxacin in poultry to achieve higher maximal serum concentrations. *Vet.J.* 165:143-148.
- SUN, Y., PENG, Y., AKSORNKOAE, N., JOHNSON, JR., GREGG BORING, J., SCRUGGS, D., COOPER, RC., LAIZURE, SC., SHUKLA, AJ., 2002. Controlled release of oxytetracycline in sheep. *Journal of Control Release* 85 (1-3): 125-134.
- SUNDERLAND, S.J., SARASOLA, P., ROWAN, T.G., GILES, C.J., SMITH, D.G., 2003. Efficacy of danofloxacin 18% injectable solution in the treatment of *Escherichia coli* diarrhoea in young calves in Europe. *Res Vet Sci.*; 74(2):171-8.
- 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.
- 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.
- TANNER, A.C., AVAKIAN, A.P., BARNES, H.J., LEY, D.H., MIGAKI, T.T., MAGONIGLE, R.A., 1993. A comparison of danofloxacin and tylosin in the control of induced *Mycoplasma gallisepticum* infection in broiler chicks. *Avian Dis.*;37(2):515-22.

- TELLIER, R. Y KEYSTONE., J.S., 1992. Prevention of traveler's diarrhea. *Infect.Dis.Clin.North Am.* 6:333-354.
- 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 deliberación retardada de enrofloxacino en la cabra. Tesis Doctoral.
- TRAN, J.H. Y JACOBY, G.A., 2002. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:5638-5642.
- TRAN, J.H., JACOBY, G.A. Y HOOPER, D.C., 2005. Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein Qnr with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrob.Agents Chemother.* 49:118-125.
- 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.
- 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.
- TURUTOGLU, H., ERCELİK, S., CORLU, M., 2005. *Aeromonas hydrophila*-associated skin lesions and septicemia in a Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*). *J S Afr Vet Assoc.*;76(1):40-2.

- 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).
- 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.
- VEYRIES, M.L., COUARRAZE, G., GEIGER, S., AGNELY, F., MASSIAS, L., KUNZLI, B., FAURISSON, F., ROUVEIX, B., 1999. Controlled release of vancomycin from poloxamer 407 gels. Int J Pharm. ;192(2):183-93.
- VILA, J., RUIZ, J., MARCO, F., BARCELO, A., GONI, P., GIRALT, E. Y JIMENEZ, D.A., 1994. Association between double mutation in gyrA gene of ciprofloxacinresistant clinical isolates of *Escherichia coli* and MICs. Antimicrob.Agents Chemother. 38:2477-2479.
- VINCENT, J., HUNT, T., TENG, R., ROBARGE, L., WILLAVIZE, S.A. & FRIEDMAN, H.L., 1998. The pharmacokinetic effects of coadministration of morphine and trovafloxacin in healthy subjects. Am. J. Surg. 176(A Suppl):32S-38S.
- VISALLI, M.A., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1996. MIC and time-kill study of activities of DU-6859a, ciprofloxacin, levofloxacin, sparfloxacin, cefotaxime, imipenem, and vancomycin against nine penicillin-susceptible and -resistant pneumococci. Antimicrob Agents Chemother;40:362-6.
- VISALLI, M.A., JACOBS, M.R., APPELBAUM, P.C., 1997. Antipneumococcal activity of BAY 12-8039, a new quinolone, compared with activities of three other quinolones and four oral b-lactams. Antimicrob Agents Chemother;41:2786-9.
- VOGELMAN, B.S, CRAIG W.A., 1985. Postantibiotic effects. J. Antimicrob. Chemother., 15 (Supp. A): 37-41.
- VOGELMAN, B.S., GUDMUNDSSON, S., TURNIDGE, J., 1988. In vivo postantibiotic effect in a thigh infection in neutropenic mice. J. Infect. Dis., 157(Nº2): 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.
- 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.
- WALKER, R.D., 2000. The use of fluoroquinolones for companion animal antimicrobial therapy. *Australian Veterinary Journal* 78, 84–90.
- WAMBERG, S., SANDGAARD, N.C.F., BIE, P., 2002. Simultaneous determination of total body water and plasma volume in conscious dogs by the indicator dilution principle. *Journal of Nutrition* 132, 1711S–1713S.
- WANG, M., TRAN, J.H., JACOBY, G.A., ZHANG, Y., WANG, F. Y HOOPER, D.C., 2003. Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47:2242-2248.
- WAXMAN, S., RODRIGUEZ, C., GONZALEZ, F., DE VICENTE, M.L., SAN ANDRES, M.I., SAN ANDRES, M.D., 2001. Pharmacokinetic behaviour of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administrations in adult goats. *Journal of Veterinary Pharmacological Therapy* 24, 375–378.
- WEBER, M.A., PIDDOCK, L.J.V., 2003. The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 51, 9-11.
- WETZSTEIN, H.G., DE JONG, A., 1996. In Vitro bactericidal activity and postantibiotic effect of fluorquinolones used in veterinary medicine. *Suppl Compend Contin Educ Pract Vet.*; 18 (2): 22-29.
- WILSON, D.A., ROUNSON, G.N., 1979. The recovery period following exposure of bacteria to penicillins. *Chemother.*, 25: 14-22.
- WISE, R., 1991. Comparative penetration of selected fluoroquinolones into respiratory tract fluids and tissues. *The American Journal Of Medicine.*; 91 (suppl. 6A): 67s-70s.

- WISE, R., BRENWALD, N.P., ANDREWS, J.M., BOSWELL, F., 1997. The activity of methylpiperazinyl fluoroquinolone CG 5501: a comparison with other fluoroquinolones. *J Antimicrob Chemother*;39:447–52.
- WOLFSON, J.S., HOOPER, D.C., 1989. Fluorquinolone antimicrobials agents. *Clin Microbiol Rev*; 2: 378-424.
- WOLFSON, J.S., HOOPER, D.C. 1991. Overview of fluorquinolone safety. *Am J Med*; 9 (Suppl 6A):153S-61.
- WOODCOCK, J.M., ANDREWS, J.M., BOSWELL, J.F., BRENWALD, N.P., WISE, R., 1997. In vitro activity of BAY 12-8039, a new fluoroquinolone. *Antimicrob Agents Chemother*;41:101–6.
- WRIGHT, D.H., BROWN, G.H., PETERSON, M.L., ROTSCHAFFER, J.C., 2000. Application of fluoroquinolone pharmacodynamics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 46, 669–683.
- 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.
- 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.
- XUAN, J.J., BALAKRISHNAN, P., OH, D.H., YEO, W.H., PARK, S.M., YONG, C.S., CHOI, H.G., 2010. Rheological characterization and in vivo evaluation of thermosensitive poloxamer-based hydrogel for intramuscular injection of piroxicam. *Int J Pharm.*;395(1-2):317-23.
- XUAN, J.J., YAN, Y.D., OH, D.H., CHOI, Y.K., YONG, C.S., CHOI, H.G., 2011. Development of thermo-sensitive injectable hydrogel with sustained release of doxorubicin: Rheological characterization and in vivo evaluation in rats. *Drug Deliv.*

- 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., 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.
- YAMAMOTO, K., KIJIMA, M., YOSHIMURA, H., TAKAHASHI, T., 2001. Antimicrobial susceptibilities of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from pigs with swine erysipelas in Japan, 1988-1998. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* ;48(2):115-26.
- 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.
- 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.
- YOSHIMURA, H., TAKAGI, M., ISHIMURA, M., ENDOH, Y.S., 2002. Comparative in vitro activity of 16 antimicrobial agents against *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet Res Commun.*;26(1):11-9.

- 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., DENG, G., SHEN, X., RIZWAN-UL-HAQ, M., ZENG, D., DING, H., 2010. Plasma and tissue pharmacokinetics of danofloxacin in healthy and in experimentally infected chickens with *Pasteurella multocida*. *J Vet Pharmacol Ther.*;34(1):101-4. doi: 10.1111/j.1365-2885.2010.01223.x.
- 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.- APÉNDICES

10.1- TABLAS

TABLA 1.- CONCENTRACIONES IV						
Tiempo	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
0,083 h.	6142,86	6666,67	5482,12	5182,19	6663,63	7391,30
0,16 h.	5786,67	4733,33	4463,44	4190,28	4362,54	4794,97
0,25 h.	3929,63	4222,22	4082,32	2759,84	4037,51	4023,24
0,50 h.	2301,08	3062,50	3530,06	2644,87	3094,44	3127,57
0,75 h.	2261,90	2482,76	2964,35	2274,92	2359,74	2492,21
1,00 h.	1768,12	2266,67	2632,12	2096,05	2100,84	2425,43
1,50 h.	1266,67	1520,83	2363,56	1581,97	2068,56	1531,49
2,00 h.	933,33	1172,41	1815,96	1226,87	1282,67	1148,31
4,00 h.	411,90	489,58	697,44	550,23	461,76	333,16
6,00 h.	171,84	181,47	314,53	248,20	199,55	168,50
8,00 h.	69,03	93,78	126,27	114,10	92,20	69,34
10,00 h.	36,59	48,99	64,26	56,98	56,86	29,94
12,00 h.	21,96	29,24	33,60	30,36	31,52	17,98
24,00 h.	-	-	5,13	-	6,22	-
Concentraciones plasmáticas experimentales de danofloxacino, en µg/L, en cada cabra tras la administración intravenosa de una dosis de 6 mg/kg.						

TABLA 2.- ESTADÍSTICOS IV						
TIEMPO	N	MEDIA	S.D.	S.E.	C.V.	N.S.
0,083 h.	6	6254,80	823,22	336,08	13,16	0.982
0,16 h.	6	4721,87	568,82	232,22	12,05	0.726
0,25 h.	6	3842,46	538,91	220,01	14,03	0.299
0,50 h.	6	2960,09	427,81	174,65	14,45	0.807
0,75 h.	6	2472,65	260,20	106,23	10,52	0.639
1,00 h.	6	2214,87	299,27	122,18	13,51	0.991
1,50 h.	6	1722,18	408,75	166,87	23,73	0.649
2,00 h.	6	1263,26	295,80	120,76	23,42	0.623
4,00 h.	6	490,68	125,02	51,04	25,48	0.995
6,00 h.	6	214,02	57,25	23,37	26,75	0.788
8,00 h.	6	94,12	23,15	9,45	24,60	0.981
10,00 h.	6	48,94	13,23	5,4	27,04	0.921
12,00 h.	6	27,44	6,10	2,49	22,22	0.724
24,00 h.	6	5,68	0,7707	0,3147	13,58	0.999

Estadísticos de las concentraciones plasmáticas experimentales de danofloxacino, en µg/L, y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración en cabras de una dosis intravenosa de 6 mg/kg.

TABLA 3.- FARMACOCINÉTICA COMPARTIMENTAL IV.

Parámetros	Unidades	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
C_1	μg/L	5225,17	4240,70	4607,44	5566,03	4480,10	4536,42
C_Z	μg/L	1962,84	1671,29	88,32	2851,16	202,87	1469,06
λ_1	h ⁻¹	2,89	1,43	0,4849	9,47	0,6379	1,29
λ_Z	h ⁻¹	0,3917	0,3480	0,1201	0,3909	0,1478	0,3760
V_c	L/kg	0,8347	1,01	1,28	0,7128	1,28	0,9991
V_p	L/kg	0,8957	0,5644	0,1948	1,1	0,4464	0,4304
$t_{1/2,1}$	h	0,2402	0,4842	1,43	0,0732	1,09	0,5363
$t_{1/2,Z}$	h	1,77	1,99	5,77	1,77	4,69	1,84
k_{10}	h ⁻¹	1,05	0,7613	0,4587	1,068	0,5577	0,8097
k_{12}	h ⁻¹	1,15	0,3639	0,0194	5,33	0,0589	0,2586
k_{21}	h ⁻¹	1,07	0,6543	0,1269	3,47	0,1690	0,6002

Parámetros farmacocinéticos bicompartimentales deducidos tras la administración intravenosa de danofloxacino, a dosis de 6 mg/kg, a cada una de las cabras a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste.

TABLA 4.- ESTADÍSTICOS COMPARTIMENTAL IV							
Parámetros	Unidades	n	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
C_1	µg/L	6	4775,98	507,11	207,07	10,62	0.666
C_z	µg/L	6	1374,26	1063,08	434,09	77,36	0.967
λ_1	h ⁻¹	6	2,71	3,42	1,4	126,8	0.606
λ_z	h ⁻¹	6	0,2958	0,1266	0,0517	42,82	0.530
V_c	L/kg	6	1,02	0,2297	0,0938	22,52	0.964
V_p	L/kg	6	0,6045	0,3319	0,1355	54,9	0.933
$T_{1/2,1}$	h	6	0,6417	0,5175	0,2113	80,65	0.866
$t_{1/2,z}$	h	6	2,97	1,78	0,7285	60	0.366
K_{10}	h ⁻¹	6	0,7849	0,2496	0,1019	31,81	0.982
K_{12}	h ⁻¹	6	1,2	2,07	0,8433	172,57	0.483
K_{21}	h ⁻¹	6	1,02	1,25	0,5107	123,22	0.588

Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos bicompartimentales deducidos de las ecuaciones de ajuste correspondientes a la administración intravenosa de danofloxacino, a la dosis de 6 mg/kg y nivel de significación de los parámetros tras la realización del test de Kolmogorov-Smirnov.

TABLA 5.- RELACIÓN MICROCONSTANTES IV						
Relación	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
λ_1/λ_z	7,37	4,11	4,04	24,23	4,32	3,44
λ_z/k_{10}	0,3717	0,4571	0,2618	0,3660	0,2650	0,4644
k_{12}/k_{10}	1,0925	0,4780	0,0423	4,9888	0,1056	0,3194
k_{12}/k_{21}	1,07	0,5562	0,1529	1,54	0,3485	0,4309
k_{21}/k_{10}	1,0182	0,8595	0,2767	3,2462	0,3030	0,7413

Relaciones entre constantes de disposición y microconstantes bicompartimentales obtenidas a partir de los valores en cada animal, correspondientes a la administración intravenosa de danofloxacino a una dosis de 6 mg/kg en cabras.

TABLA 6.- ESTADÍSTICOS RELACIÓN CONSTANTES IV.				
RELACIÓN	MEDIA	S.D.	S.E.	C.V
λ_1/λ_2	7,92	8,11	3,31	102,46
λ_2/k_{10}	0,3643	0,0884	0,0361	24,25
k_{12}/k_{10}	1,1711	1,9077	0,7790	162,90
k_{12}/k_{21}	0,6830	0,5203	0,2125	76,18
k_{21}/k_{10}	1,0741	1,1053	0,4513	102,90

Estadísticos de las relaciones entre constantes de disposición y microconstantes bicompartimentales correspondientes a danofloxacino tras la administración intravenosa de una dosis de 6 mg/kg a cabras.

TABLA 7.- Concentraciones teóricas IV						
Tiempo	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
0.083 h.	6010,85	5389,80	4513,13	5296,35	4449,46	5499,73
0.16 h.	5134,26	4954,20	4350,13	3901,51	4243,53	5073,70
0.25 h.	4316,75	4498,08	4167,14	3107,33	4015,20	4623,15
0.50 h.	2845,53	3478,90	3698,64	2393,86	3445,06	3597,37
0.75 h.	2061,28	2738,33	3283,42	2131,24	2958,16	2832,06
1.00 h.	1617,09	2194,93	2915,40	1929,09	2542,29	2257,40
1.50 h.	1159,18	1488,08	2300,02	1586,26	1883,34	1490,96
2.00 h.	912,86	1076,12	1816,41	1304,64	1401,83	1036,29
4.00 h.	409,72	429,35	717,00	596,98	461,58	352,53
6.00 h.	187,16	207,93	294,11	273,17	181,09	155,89
8.00 h.	85,50	103,32	129,01	125,00	89,41	72,71
10.00 h.	39,06	51,49	62,68	57,20	53,88	34,22
12.00 h.	17,85	25,67	34,59	26,17	36,55	16,13
24.00 h.	0,1622	0,3943	4,99	0,2402	5,84	0,1770

Concentraciones teóricas de danofloxacino, en µg/L, encada cabra obtenidas de su correspondiente ecuación, tras aplicar el modelo farmacocinético bicompartimental, obtenidas tras su administración intravenosa.

TABLA 8.- ESTADÍSTICOS CONCENTRACIONES TEÓRICAS IV.					
TIEMPO	n	MEDIA	S.D.	S.E.	C.V
0.083 h.	6	5193,22	604,56	246,81	11,64
0.16 h.	6	4609,56	512,27	209,13	11,11
0.25 h.	6	4121,28	542,86	221,62	13,17
0.50 h.	6	3243,23	511,60	208,86	15,77
0.75 h.	6	2667,41	479,80	195,88	17,99
1.00 h.	6	2242,70	454,86	185,70	20,28
1.50 h.	6	1651,31	393,30	160,57	23,82
2.00 h.	6	1258,03	327,43	133,67	26,03
4.00 h.	6	494,53	136,15	55,58	27,53
6.00 h.	6	216,56	54,95	22,43	25,37
8.00 h.	6	100,83	22,54	9,20	22,36
10.00 h.	6	49,75	10,94	4,47	21,98
12.00 h.	6	26,16	8,36	3,41	31,94
24.00 h.	6	1,97	2,69	1,10	136,51

Estadísticos de las concentraciones teóricas de danofloxacino, en mg/L, obtenidos tras su administración IV.

TABLA 9.- TESTS ESTADÍSTICOS C. EXPERIMENTALES Y TEÓRICAS.		
CABRAS	Correlación de Pearson	R²
C_A experimental-C_A teórico	0.9914	0.983
C_B experimental-C_B teórico	0.9819	0.964
C_C experimental-C_C teórico	0.9879	0.976
C_D experimental-C_D teórico	0.9949	0.990
C_E experimental-C_E teórico	0.9524	0.917
C_F experimental-C_F teórico	0.9651	0.931

Correlación de Pearson y regresión entre las concentraciones experimentales y teóricas en cada animal, obtenidas tras la administración intravenosa de danofloxacino.

TABLA 10.- FARMACOCINÉTICA NO COMPARTIMENTAL IV

Parámetros	Unidades	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
C_0	mg/L	6,55	9,64	6,84	6,51	10,52	11,78
AUC	mg·h/L	6,83	8,06	10,22	7,73	8,45	7,69
AUC _{0-24h}	mg·h/L	6,83	8,05	10,19	7,73	8,41	7,69
AUMC	mg·h ² /L	13,70	16,58	25,62	18,25	20,20	13,44
MRT	h	2,00	2,06	2,51	2,36	2,39	1,75
Cl	L/kg/h	0,8781	0,7446	0,5870	0,7761	0,7098	0,7800
V _{ss}	L/kg	1,76	1,53	1,47	1,83	1,70	1,36
V _z	L/kg	3,07	2,43	3,41	2,35	4,73	2,06

Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada animal tras la administración intravenosa de danofloxacino a dosis de 6 mg/kg.

TABLA 11.- ESTADÍSTICOS FARMACOCINÉTICA NO COMPARTIMENTAL IV

Parámetros	n	Media	S.D.	S.E.	C.V.	N.S.
C_0	6	8,64	2,30	0,9405	26,67	0.724
AUC	6	8,16	1,14	0,4659	13,98	0.897
AUC _{0-24h}	6	8,15	1,13	0,4608	13,85	0.873
AUMC	6	17,97	4,57	1,86	25,42	0.998
MRT	6	2,18	0,2888	0,1179	13,26	0.894
Cl	6	0,7459	0,0960	0,0392	12,87	0.974
V _{ss}	6	1,61	0,1830	0,0747	11,38	0.980
V _z	6	3,01	0,9794	0,3999	32,56	0.928

Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales y nivel de significación de los parámetros tras la realización del Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración intravenosa de danofloxacino a dosis de 6 mg/kg.

TABLA 12.- CONCENTRACIONES SC						
Tiempo	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
0.083 h.	312,11	160,40	164,37	112,82	131,46	89,13
0.16 h.	355,56	358,93	367,10	326,88	364,58	178,43
0.25 h.	546,69	466,61	758,71	379,46	No muestra	373,48
0.50 h.	901,30	974,20	830,56	601,71	627,45	589,32
0.75 h.	1015,53	1319,44	956,84	667,48	867,21	765,87
1.00 h.	1308,98	1496,30	1158,22	833,33	1030,11	972,77
1.50 h.	1363,24	1984,13	1489,26	1096,85	1296,08	1031,30
2.00 h.	1568,63	1797,82	1615,97	1344,70	1446,46	1128,94
4.00 h.	986,03	1094,68	1155,12	1216,32	1188,82	914,88
6.00 h.	476,42	593,61	691,23	648,07	802,80	650,20
8.00 h.	216,68	246,25	237,50	251,95	280,11	480,14
10.00 h.	106,14	128,21	100,00	99,64	114,40	262,91
12.00 h.	57,78	71,31	49,76	56,48	63,01	44,23
24.00 h.	6,80	8,03	6,21	5,00	7,89	5,21
Concentraciones plasmáticas experimentales de danofloxacino, en µg/L, en cada cabra tras la administración subcutánea de una dosis de 6 mg/kg.						

TABLA 13.- ESTADÍSTICOS SC						
TIEMPO	N	MEDIA	S.D.	S.E.	C.V.	N.S.
0.083 h.	6	161,71	72,11	29,44	44,59	0.571
0.16 h.	6	325,25	66,97	27,34	20,59	0.483
0.25 h.	6	504,99	141,87	57,92	28,09	0.986
0.50 h.	6	754,09	154,04	62,89	20,43	0.760
0.75 h.	6	932,06	207,96	84,90	22,31	0.982
1.00 h.	6	1133,29	219,71	89,70	19,39	0.996
1.50 h.	6	1376,81	312,50	127,58	22,70	0.963
2.00 h.	6	1483,75	212,11	86,59	14,30	1.000
4.00 h.	6	1092,64	109,10	44,54	9,99	0.971
6.00 h.	6	643,72	98,43	40,18	15,29	0.988
8.00 h.	6	285,44	89,09	36,37	31,21	0.436
10.00 h.	6	135,21	57,94	23,65	42,85	0.360
12.00 h.	6	57,09	8,73	3,56	15,29	1.000
24.00 h.	6	6,52	1,18	0,48	18,09	0.984

Estadísticos de las concentraciones plasmáticas experimentales de danofloxacino, en µg/L, y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración en cabras de una dosis subcutánea de 6 mg/kg.

TABLA 14.- FARMACOCINÉTICA COMPARTIEMENTAL SC

Parámetros	Unidades	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
C_1	µg/L	2826,09	4745,43	4196,29	3284,81	3750,82	3240,05
λ_1	h ⁻¹	0,38	0,54	0,52	0,47	0,47	0,44
$t_{1/2 \lambda_1}$	h	1,82	1,29	1,34	1,49	1,47	1,59
K_a	h ⁻¹	0,87	0,54	0,52	0,47	0,47	0,44
$t_{1/2 K_a}$	h	0,8	1,28	1,34	1,49	1,47	1,59

Parámetros farmacocinéticos monocompartimentales, deducidos tras la administración subcutánea de danofloxacino, a dosis de 6 mg/kg, a cada una de las cabras a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste.

TABLA 15.- ESTADÍSTICOS COMPARTIEMENTAL SC

Parámetros	Unidades	n	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
C_1	µg/L	6	3673,92	705,04	287,83	19,19	0.955
λ_1	h ⁻¹	6	0,4700	0,0573	0,0234	12,19	0.996
$t_{1/2 \lambda_1}$	h	6	1,50	0,1904	0,0777	12,69	0.984
K_a	h ⁻¹	6	0,5517	0,1602	0,0654	29,04	0.410
$t_{1/2 K_a}$	h	6	1,33	0,2815	0,1149	21,19	0.793

Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos monocompartimentales deducidos de las ecuaciones de ajuste correspondientes a la administración subcutánea.

TABLA 16.- FARMACOCINÉTICA NO COMPARTIMENTAL SC							
Parámetros	Unidades	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
λ_z	h ⁻¹	0,1901	0,1924	0,1898	0,2096	0,1848	0,2621
$t_{1/2z}$	h	3,65	3,6	3,65	3,31	3,75	2,64
AUC	h	7,55	8,9	8,35	7,58	8,37	7,5
AUC_{0-24h}	mg/L	7,52	8,86	8,317	7,55	8,33	7,48
AUMC	mg·h ² /L	31,44	37,16	34,81	33,51	38,15	36,54
MRT	h	4,16	4,17	4,17	4,42	4,56	4,87
MAT	h	2,16	2,11	1,66	2,06	2,17	3,12
V_z	L/kg	4,18	3,5	3,79	3,77	3,88	3,05
CL	L/kg/h	0,79	0,67	0,72	0,79	0,72	0,8
C_{máx}	L/kg	1,57	1,98	1,62	1,34	1,45	1,13
T_{máx}	L/kg/h	2	1,5	2	2	2	2
F	%	110,54	110,42	81,70	98,06	99,05	97,53
Parámetros farmacocinéticos no compartimentales en plasma obtenidos tras la administración subcutánea de danofloxacino a dosis de 6 mg/kg.							

TABLA 17.- ESTADÍSTICOS NO COMPARTIMENTAL SC

Parámetros	Unidades	Media	S.D.	S.E.	C.V.	N.S.
λ_z	h ⁻¹	0,2048	0,0293	0,0120	14,32	0.529
$t_{1/2,z}$	h	3,43	0,4163	0,1700	12,13	0.562
AUC	mg·h/L	8,04	0,5810	0,2372	7,23	0.708
AUC_{0-24h}	mg·h/L	8,01	0,5748	0,2346	7,18	0.702
AUMC	mg·h ² /L	35,27	2,51	1,02	7,11	0.978
MRT	h	4,39	0,2863	0,1169	6,52	0.732
MAT	h	2,21	0,4831	0,1972	21,83	0.387
V_z	L/kg	3,70	0,3842	0,1569	10,40	0.867
CL	L/kg/h	0,7483	0,0527	0,0215	7,04	0.713
C_{máx}	mg/L	1,52	0,2875	0,1174	18,98	0.981
T_{máx}	h	1,92	0,2041	0,0833	10,65	0.110
F	(%)	99,55	10,62	4,34	10,67	0.820

Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales en plasma y su nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración subcutánea de danofloxacino a dosis de 6 mg/kg.

TABLA 18.- CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS SC- P407

Tiempo	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
0.083 h.	250,00	290,70	244,46	296,79	123,83	63,08
0.16 h.	629,29	547,45	668,37	837,02	404,35	210,57
0.25 h.	1498,72	790,94	1245,50	1387,31	629,08	351,47
0.50 h.	2735,41	1457,77	2101,93	2110,04	1683,09	1187,52
0.75 h.	3901,84	1547,48	2913,01	3443,22	2753,18	1736,26
1.00 h.	4344,92	3290,08	3404,22	3871,13	2922,08	2075,54
1.50 h.	3636,65	3125,00	3976,94	4938,97	4078,48	4491,67
2.00 h.	3606,36	2275,28	3246,96	5368,59	3701,14	4163,38
4.00 h.	1876,59	1367,19	2268,46	3791,60	3497,24	3701,64
6.00 h.	921,13	975,69	1519,58	2061,86	2854,44	2306,55
8.00 h.	484,26	425,18	842,42	1248,79	905,38	1036,56
10.00 h.	246,30	245,00	335,88	534,55	492,41	489,95
12.00 h.	92,71	125,00	187,49	262,98	237,42	243,29
24.00 h.	8,89	10,17	13,20	16,83	24,37	18,55
32.00 h.	-	-	6,58	8,55	-	7,52

Concentraciones plasmáticas experimentales de danofloxacino, en µg/L, en cada cabra tras la administración subcutánea de una formulación de liberación sostenida con gel P407 a una dosis de 18 mg/kg.

TABLA 19.- ESTADÍSTICOS SC-P407

TIEMPO	N	MEDIA	S.D.	S.E.	C.V.	N.S.
0.083 h.	6	211,48	95,74	39,09	45,27	0.647
0.16 h.	6	549,51	218,68	89,28	39,80	0.997
0.25 h.	6	983,84	460,29	187,91	46,78	0.944
0.50 h.	6	1879,30	553,26	225,87	29,44	0.994
0.75 h.	6	2715,83	927,43	378,62	34,15	0.984
1.00 h.	6	3317,99	783,48	319,85	23,61	0.999
1.50 h.	6	4041,29	635,22	259,33	15,72	1.000
2.00 h.	6	3726,95	1023,56	417,87	27,46	0.992
4.00 h.	6	2750,45	1044,59	426,45	37,98	0.802
6.00 h.	6	1773,21	769,84	314,28	43,41	0.988
8.00 h.	6	823,77	318,46	130,01	38,66	0.982
10.00 h.	6	390,68	131,13	53,53	33,56	0.753
12.00 h.	6	191,48	69,42	28,34	36,26	0.861
24.00 h.	6	15,34	5,78	2,36	37,69	0.999
32.00 h.	6	7,55	0,9838	0,4016	13,03	1.000

Estadísticos de las concentraciones plasmáticas experimentales de danofloxacino, en µg/L, y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración en cabras de una dosis subcutánea de una formulación de liberación retardada con gel P407 de 18 mg/kg.

TABLA 20.- FARMACOCINÉTICA COMPARTIMENTAL SC-P407.

Parámetros	Unidades	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
C_1	µg/L	8523,31	4278,80	9014,13	13449,22	9476,79	7100,81
C_Z	µg/L	45,75	94,03	65,02	78,15	279,28	60,65
λ_1	h ⁻¹	0,5519	0,3580	0,4868	0,4878	0,4735	0,4072
λ_Z	h ⁻¹	0,0753	0,1034	0,0768	0,0747	0,1224	0,0715
V_c	L/kg	14,90	13,54	12,10	8,42	6,59	13,76
V_p	L/kg	2,10	4,12	1,98	1,33	1,85	2,51
$t_{1/21}$	h	1,26	1,94	1,42	1,42	1,46	1,70
$t_{1/2Z}$	h	9,21	6,70	9,02	9,28	5,66	9,69
k_{10}	h ⁻¹	0,5339	0,3400	0,4689	0,4727	0,4375	0,3917
k_{12}	h ⁻¹	0,0155	0,0125	0,0150	0,0127	0,0259	0,0127
k_{21}	h ⁻¹	0,0778	0,1089	0,0798	0,0771	0,1325	0,0743
$t_{1/2ka}$	h	1,26	0,7639	1,42	1,42	1,46	1,70
K_a	h ⁻¹	0,5520	0,9074	0,4868	0,4879	0,4735	0,4072

Parámetros farmacocinéticos bicompartmentales deducidos tras la administración subcutánea de una formulación de liberación retardada de danofloxacino con gel P407, a dosis de 18 mg/kg, a cada una de las cabras a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste.

**TABLA 21.- ESTADÍSTICOS FARMACOCINÉTICA
COMPARTIMENTAL SC-P407**

Parámetros	Unidades	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
C₁	µg/L	8640,51	3012,36	1229,79	34,86	0.924
C_Z	µg/L	103,81	87,50	35,72	84,29	0.358
λ₁	h ⁻¹	0,4609	0,0683	0,0279	14,81	0.880
λ_Z	h ⁻¹	0,0874	0,0208	0,0085	23,76	0.415
V_c	L/kg	11,55	3,31	1,35	28,65	0.902
V_p	L/kg	2,32	0,9634	0,3933	41,62	0.830
t_{1/2}1	h	1,53	0,2445	0,0998	15,95	0.716
t_{1/2}Z	h	8,26	1,66	0,6772	20,08	0.479
k₁₀	h ⁻¹	0,4408	0,0679	0,0277	15,41	0.998
k₁₂	h ⁻¹	0,0157	0,0052	0,0021	32,79	0.454
k₂₁	h ⁻¹	0,0917	0,0237	0,0097	25,85	0.421
t_{1/2}ka	h	1,34	0,3147	0,1285	23,53	0.773
K_a	h ⁻¹	0,5525	0,1799	0,0734	32,56	0.514

Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos bicompartimentales deducidos de las ecuaciones de ajuste correspondientes a la administración subcutánea de una formulación de liberación retardada de danofloxacino con gel P407, a dosis de 18 mg/kg y nivel de significación de los parámetros tras la realización del test de Kolmogorov-Smirnov.

TABLA 22.- FARMACOCINÉTICA NO COMPARTIMENTAL SC-P407

Parámetros	Unidades	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
λ_z	h^{-1}	0,2807	0,2209	0,2227	0,2279	0,2060	0,2256
$t_{1/2z}$	h	2,47	3,14	3,11	3,04	3,3651	3,07
AUC	mg·h/L	17,15	13,13	19,61	28,63	25,54	25,15
AUC _{0-24h}	mg·h/L	17,12	13,08	19,5	28,5	25,42	25,02
AUMC	mg·h ² /L	62,46	55,88	87,89	129,77	123,8	121,92
MRT	h	3,56	4,26	4,48	4,53	4,85	4,85
MAT	h	1,56	2,20	1,97	2,17	2,46	3,10
V _z	L/kg	3,74	6,21	4,12	2,76	3,4	3,17
CL	L/kg/h	1,05	1,37	0,92	0,63	0,7	0,72
C _{máx}	mg/L	4,34	3,29	3,98	5,37	4,08	4,49
T _{máx}	h	1	1	1,5	2	1,5	1,5
F	%	83,70	54,30	63,96	123,46	100,75	109,02

Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos en plasma para cada animal tras la administración subcutánea de una formulación de liberación sostenida de danofloxacino con gel P407 a dosis de 18 mg/kg.

**TABLA 23.- ESTADÍSTICOS FARMACOCINÉTICA NO
COMPARTIMENTAL SC-P407**

Parámetros	Unidades	Media	S.D.	S.E.	C.V.	N.S.
λ_z	h ⁻¹	0,2306	0,0257	0,0105	11,15	0.365
$t_{1/2z}$	h	3,03	0,2987	0,1219	9,85	0.479
AUC	mg·h/L	21,54	5,88	2,40	27,32	0.907
AUC_{0-24h}	mg·h/L	21,44	5,84	2,39	27,26	0.909
AUMC	mg·h ² /L	96,95	32,80	13,39	33,83	0.748
MRT	h	4,42	0,4797	0,1958	10,85	0.944
MAT	h	2,24	0,5157	0,2105	22,99	0.970
V_z	L/kg	3,90	1,22	0,4998	31,39	0.805
CL	L/kg/h	0,8983	0,2790	0,1139	31,05	0.884
C_{máx}	Mg/L	4,26	0,6846	0,2795	16,08	0.969
T_{máx}	h	1,42	0,3764	0,1537	26,57	0.833
F	%	89,20	26,78	10,93	30,02	0.996

Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales en plasma y su nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración subcutánea de liberación sostenida con gel P407 de danofloxacino a dosis de 18 mg/kg.

**TABLA 24.-. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS
SC- P407-CMC**

Tiempo	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
0.083 h.	542,64	77,37	91,91	212,89	275,86	80,48
0.16 h.	269,04	318,04	190,15	537,08	455,42	361,87
0.25 h.	310,75	475,64	391,23	631,33	954,97	590,99
0.50 h.	570,95	1007,96	611,03	907,26	1479,03	886,60
0.75 h.	1139,90	1515,15	904,39	1118,42	2138,08	1206,14
1.00 h.	1505,97	2301,59	1306,22	1607,66	2762,10	2029,91
1.50 h.	2380,95	2838,10	1839,24	2088,38	3106,80	2491,17
2.00 h.	3080,39	2950,82	2316,18	2230,71	3233,40	2965,69
4.00 h.	2980,39	2126,13	2493,44	1660,16	2329,06	2334,10
6.00 h.	1802,27	1587,30	1573,96	1362,78	1420,77	1549,59
8.00 h.	900,85	774,37	780,84	739,39	570,04	857,14
10.00 h.	549,47	371,28	484,48	342,53	210,10	467,35
12.00 h.	332,45	220,68	317,62	204,97	122,70	242,04
24.00 h.	24,69	23,50	27,71	13,70	13,62	26,55
32.00 h.	6,86	5,41	6,33	5,05	7,91	11,76
48.00 h.	-	-	-	-	-	8,08
72.00 h.	-	-	-	-	-	7,92

Concentraciones plasmáticas experimentales de danofloxacin, en µg/L, en cada cabra tras la administración subcutánea de una dosis de 18 mg/kg en formulación de liberación sostenida con gel P407 y carboximetilcelulosa

TABLA 25.- ESTADÍSTICOS SC-P407-CMC						
TIEMPO	N	MEDIA	S.D.	S.E.	C.V.	N.S.
0.083 h.	6	213,52	164,94	67,34	77,25	0.849
0.16 h.	6	355,27	114,90	46,91	32,34	1.000
0.25 h.	6	559,15	208,07	84,95	37,21	0.956
0.50 h.	6	910,47	299,52	122,28	32,90	0.941
0.75 h.	6	1337,01	400,91	163,67	29,99	0.719
1.00 h.	6	1918,91	502,08	204,97	26,16	0.946
1.50 h.	6	2457,44	426,60	174,16	17,36	1.000
2.00 h.	6	2796,20	381,83	155,88	13,66	0.608
4.00 h.	6	2320,54	395,70	161,54	17,05	0.991
6.00 h.	6	1549,45	139,86	57,10	9,03	0.893
8.00 h.	6	770,44	104,70	42,74	13,59	0.918
10.00 h.	6	404,20	111,13	45,37	27,49	0.973
12.00 h.	6	240,08	70,64	28,84	29,42	0.993
24.00 h.	6	21,63	5,79	2,36	26,77	0.724
32.00 h.	6	7,22	2,24	0,9134	30,99	0.921
48.00 h.	6	8,08	0	0	0	-
72.00 h.	6	7,92	0	0	0	-

Estadísticos de las concentraciones plasmáticas experimentales de danofloxacino, en µg/L, y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov, tras la administración subcutánea a cabras de una formulación de liberación sostenida con gel P407 y carboximetilcelulosa a la dosis de 18 mg/kg.

**TABLA 26.- FARMACOCINÉTICA
COMPARTIMENTAL SC-P407-CMC
(Cabras A, B, C Y D)**

Parámetros	Unidades	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra E
C_1	$\mu\text{g/L}$	5160,5	6222,52	4161,55	8254,76
C_Z	$\mu\text{g/L}$	88,95	503,45	232,20	47,39
λ_1	h^{-1}	0,3460	0,4747	0,3425	0,5298
λ_Z	h^{-1}	0,0935	0,1524	0,1310	0,0593
V_c	L/kg	12,13	7,20	9,87	18,55
V_p	L/kg	3,43	2,68	4,10	2,17
$t_{1/2,1}$	h	2,00	1,46	2,02	1,31
$t_{1/2,Z}$	h	7,41	4,55	5,29	11,70
k_{10}	h^{-1}	0,3309	0,4098	0,3155	0,5068
k_{12}	h^{-1}	0,0109	0,0408	0,0157	0,0203
k_{21}	h^{-1}	0,0978	0,1765	0,1422	0,0619
$t_{1/2,ka}$	h	2,00	1,46	2,02	1,31
K_a	h^{-1}	0,3460	0,4747	0,3425	0,5298

Parámetros farmacocinéticos bicompartimentales obtenidos en plasma para cada animal (excepto las cabras D y F), tras la administración subcutánea en liberación sostenida de danofloxacino con gel P407 y carboximetilcelulosa a dosis de 18 mg/kg.

TABLA 27.- ESTADÍSTICOS FARMACOCINÉTICA COMPARTIMENTAL SC-P407-CMC (Cabras A, B, C y D)						
Parámetros	Unidades	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
C₁	µg/L	5949,83	1751,96	715,23	29,45	0.999
C_Z	µg/L	218,00	206,11	84,14	94,55	0.981
λ₁	h ⁻¹	0,4233	0,0940	0,0384	22,20	0.879
λ_Z	h ⁻¹	0,1091	0,0411	0,0168	37,73	0.996
V_c	L/kg	11,94	4,85	1,98	40,60	0.981
V_p	L/kg	3,10	0,8466	0,3456	27,35	0.999
t_{½1}	h	1,70	0,3661	0,1495	21,57	0.876
t_{½Z}	h	7,24	3,21	1,31	44,39	0.985
k₁₀	h ⁻¹	0,3908	0,0877	0,0358	22,44	0.961
k₁₂	h ⁻¹	0,0219	0,0132	0,0054	60,00	0.867
k₂₁	h ⁻¹	0,1196	0,0502	0,0205	41,95	1.000
t_{½ka}	h	1,70	0,3661	0,1495	21,57	0.876
K_a	h ⁻¹	0,4233	0,0940	0,0384	22,20	0.879

Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos bicompartmentales en plasma y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración subcutánea de la formulación de liberación sostenida de danofloxacino con gel P407 y carboximetilcelulosa a dosis de 18 mg/kg.

**TABLA 28.- FARMACOCINÉTICA
COMPARTIMENTAL SC-P407-CMC
(Cabras D y F)**

Parámetros	Unidades	Cabra D	Cabra F
C_1	µg/L	100043,61	30088,04
C_2	µg/L	5015,41	6410,70
C_Z	µg/L	85,83	123,05
λ_1	h ⁻¹	133,47	118,51
Λ_2	h ⁻¹	0,4161	0,4221
λ_Z	h ⁻¹	0,0972	0,0796
V_c	L/kg	13,50	13,31
V_p	L/kg	0,17	0,4915
$t_{1/2,1}$	h	0,0052	0,0058
$t_{1/2,2}$	h	1,67	1,64
$t_{1/2,Z}$	h	7,13	8,71
k_{10}	h ⁻¹	7,67	2,16
k_{12}	h ⁻¹	119,04	95,15
k_{21}	h ⁻¹	6,86	21,49
K_{13}	h ⁻¹	0,3084	0,1377
K_{31}	h ⁻¹	0,10231	0,086
$t_{1/2,ka}$	h	1,67	1,64
K_a	h ⁻¹	0,4151	0,4222

Parámetros farmacocinéticos tricompartmentales obtenidos en plasma para los animales D y F, tras la administración subcutánea en liberación sostenida de danofloxacino con gel P407 y carboximetilcelulosa a dosis de 18 mg/kg.

**TABLA 29.- ESTADÍSTICOS FARMACOCINÉTICA
COMPARTIMENTAL SC-P407-CMC (Cabras D y F)**

Parámetros	Unidades	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
C_1	µg/L	65065,83	49466,06	20194,43	76,02	0,999
C_2	µg/L	5713,06	986,62	402,79	17,27	0,999
C_Z	µg/L	104,44	26,32	10,74	25,20	0,999
λ_1	h ⁻¹	125,99	10,58	4,32	8,40	0,999
Λ_2	h ⁻¹	0,4191	0,0042	0,0017	1,01	0,999
λ_Z	h ⁻¹	0,0884	0,0124	0,0051	14,08	0,999
V_c	L/kg	13,41	0,1344	0,0548	1,00	0,999
V_p	L/kg	0,3308	0,2273	0,0928	68,73	0,999
$t_{1/21}$	h	0,0055	0,0004	0,0002	7,71	0,999
$t_{1/22}$	h	1,66	0,0212	0,0087	1,28	0,999
$t_{1/2Z}$	h	7,92	1,12	0,4561	14,11	0,999
k_{10}	h ⁻¹	4,92	3,90	1,59	79,27	0,999
k_{12}	h ⁻¹	107,10	16,89	6,90	15,77	0,999
k_{21}	h ⁻¹	14,18	10,34	4,22	72,98	0,999
K_{13}	h ⁻¹	0,2231	0,1207	0,0493	54,11	0,999
K_{31}	h ⁻¹	0,0942	0,0115	0,0047	12,25	0,999
$t_{1/2ka}$	h	1,66	0,0212	0,0087	1,28	0,999
K_a	h ⁻¹	0,4187	0,0050	0,0020	1,20	0,999

Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos tricompartmentales en plasma para los animales D y F, y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración subcutánea de la formulación de liberación sostenida de danofloxacino con gel P407 y carboximetilcelulosa a dosis de 18 mg/kg.

**TABLA 30.- FARMACOCINÉTICA NO COMPARTIMENTAL
SC-P407-CMC**

Parámetros	Unidades	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
λ_z	h ⁻¹	0,2050	0,1856	0,1979	0,2162	0,1526	0,0938
$t_{1/2z}$	H	3,38	3,74	3,5	3,2	4,54	7,39
AUC	mg·h/L	20,27	17,61	17,13	14,3	17,35	18,57
AUC_{0-24h}	mg·h/L	20,12	17,48	16,99	14,21	17,22	17,99
AUMC	mg·h ² /L	111,87	90,21	99,69	75,04	76,44	121,36
MRT	h	5,52	5,12	5,82	5,25	4,4	6,53
MAT	h	3,52	3,06	3,31	2,89	2,01	4,78
V_z	L/kg	4,33	5,51	5,31	5,82	6,8	10,33
CL	L/kg/h	0,89	1,02	1,05	1,26	1,04	0,97
C_{máx}	mg/L	3,08	2,95	2,49	2,23	3,23	2,97
T_{máx}	h	2	2	4	2	2	2
F	%	98,93	72,83	55,87	61,66	68,44	80,49

Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos en plasma para cada animal tras la administración subcutánea en liberación sostenida de danofloxacino con gel P407 y carboximetilcelulosa a dosis de 18 mg/kg.

**TABLA 31.- ESTADÍSTICOS NO COMPARTIMENTAL
SC-P407-CMC**

Parámetros	Unidades	Media	S.D.	S.E.	C.V.	N.S.
Az	h ⁻¹	0,1752	0,0455	0,0186	25,95	0.822
t_{1/2}	h	4,29	1,59	0,6485	37,01	0.642
AUC	mg·h/L	17,54	1,96	0,8004	11,18	0.845
AUC_{0-24h}	mg·h/L	17,34	1,90	0,7768	10,98	0.807
AUMC	mg·h ² /L	95,77	18,78	7,67	19,61	0.989
MRT	h	5,44	0,7154	0,2921	13,15	0.998
MAT	h	3,26	0,9077	0,3706	27,83	0.931
Vz	L/Kg	5,44	0,7154	0,2921	13,15	0.790
CL	L/Kg/h	6,35	2,11	0,8601	33,18	0.670
C_{máx}	mg/L	2,83	0,3826	0,1562	13,54	0.675
T_{máx}	h	2,33	0,8165	0,3333	34,99	0.110
F	(%)	73,04	15,31	6,25	20,96	0.994

Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales en plasma y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración subcutánea de la formulación de liberación sostenida de danofloxacino con gel P407 y carboximetilcelulosa a dosis de 18 mg/kg

TABLA 32.- FARMACOCINÉTICA COMPARATIVA: IV, SC, SC1, SC2					
Parámetros	Unidades	IV	SC	P407	P407+CMC
λ_z	h^{-1}	0,2958	0,4700	0,0874	0,1022
$t_{1/2z}$	h	2,97	1,50	8,26	7,47
K_a	h^{-1}	-	0,5517	0,5525	0,42
$t_{1/2ka}$	h	-	1,33	1,34	1,68
AUC	mg·h/L	8,16	8,04	21,54/ 7,18*	17,54/5,85*
AUC_{0-24h}	mg·h/L	8,15	8,01	21,44/ 5,85*	17,34/ 5,78*
AUMC	mg·h ² /L	17,97	35,27	96,95	95,77
MRT	h	2,18	4,39	4,42	5,44
MAT	h	-	2,21	2,24	3,26
V_z	L/Kg	3,01	3,70	3,90	6,35
CL	L/Kg/h	0,7459	0,7483	0,8983	1,04
C_{máx}	mg/L	-	1,52	4,26/ 1,42*	2,83/ 0,94*
T_{máx}	h	-	1,92	1,42	2,33
F	(%)	100	99,55	89,20	73,04

Valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos en plasma tras la administración de una dosis de 6 mg/kg de danofloxacino por vía intravenosa (IV) y subcutánea (SC), y de una dosis de 18 mg/kg de danofloxacino por vía subcutánea en solución del polímero P407 al 25% (SC1) y subcutánea en solución del polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2% (SC2). *Valores de C_{máx}, AUC_{0-∞} y de AUC₀₋₂₄ de danofloxacino tras su administración vía SC1 y SC2, corregidos a una dosis de 6 mg/kg.

TABLA 33.- ESTUDIO COMPARATIVO PARAMÉTRICO Y NO PARAMÉTRICO NO COMPARTIMENTAL				
Parámetros	IV	SC	P407	P407+CMC
λ_z	0,2958	0,4700	0,0874	0,1022 ^c
$t_{1/2z}$	2,97	1,50	8,26	7,47 ^c
AUC	8,16	8,04	21,54/7,18*	17,54/5,85* ^{a,b}
AUC_{0-24h}	8,15	8,01	21,44/5,85*	17,34/5,78* ^{a,b}
AUMC	17,97	35,27 ^a	96,95 ^{a,b}	95,77 ^{a,b}
MRT	2,18	4,39 ^a	4,42 ^a	5,44 ^{a,b,c}
MAT	-	2,21	2,24	3,26 ^{b,c}
C_{máx}		1,52	4,26/ 1,42*	2,83/0.94* ^{b,c}
T_{máx}		1,92	1,42 ^b	2,33 ^c
F (%)		99,55	89,20	73,04 ^b

Estudio comparativo paramétrico (t-Student) y no paramétrico (test de Wilcoxon) de los principales parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos en plasma para los cuatro estudios cinéticos de danofloxacino según la formulación empleada. *Valores de C_{máx}, AUC_{0-∞} y de AUC₀₋₂₄ de danofloxacino tras su administración vía SC1 y SC2, corregidos a una dosis de 6 mg/kg.

^a Diferencias significativas con la administración IV (P < 0.05)

^b Diferencias significativas con la administración SC (P < 0.05)

^c Diferencias significativas con la administración del gel P407 (P < 0.05)

TABLA 34.-CMI		Concentración mínima inhibitoria (CMI, µg/mL)													
Especies	Origen	≤0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
<i>S. aureus</i>	Leche de cabra			8	16	4	4								

Concentraciones mínimas inhibitorias (µg/mL) de danofloxacino frente a 32 microorganismos aislados de mamitis caprinas. Resultado del estudio realizado por Marín y cols., 2010.

Tabla 35 (A, B y C).- RELACIÓN PK/PD**A**

SUBCUTÁNEO (SC)						
	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
<i>CMI = 0,12 µg/mL S.aureus</i>						
AUC ₂₄ /CMI	62,67	73,83	69,33	62,92	69,42	62,33
C _{máx} /CMI	13,08	16,50	13,50	11,17	12,08	9,42
<i>CMI₅₀ = 0,25 µg/mL S.aureus</i>						
AUC ₂₄ /CMI	30,08	35,44	33,28	30,2	33,32	29,92
C _{máx} /CMI	6,28	7,92	6,48	5,36	5,8	4,52
<i>CMI₉₀ = 0,5 µg/mL S.aureus</i>						
AUC ₂₄ /CMI	15,04	17,72	16,64	15,1	16,66	14,96
C _{máx} /CMI	3,14	3,96	3,24	2,68	2,9	2,26
<i>CMI = 1 µg/mL S.aureus</i>						
AUC ₂₄ /CMI	7,52	8,86	8,32	7,55	8,33	7,48
C _{máx} /CMI	1,57	1,98	1,62	1,34	1,45	1,13

B

P407 (SC1)						
	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
<i>CMI = 0,12 µg/mL S.aureus</i>						
AUC ₂₄ /CMI	142,67 47,56*	109,00 36,33*	162,50 54,17*	237,50 79,17*	211,83 70,61*	208,50 69,50*
C _{máx} /CMI	36,17 12,06*	27,42 9,14*	33,17 11,06*	44,75 14,92*	34,00 11,33	37,42 12,47*
<i>CMI₅₀ = 0,25 µg/mL S.aureus</i>						
AUC ₂₄ /CMI	68,48 22,83*	52,32 17,44*	78 26,00*	114 38,00*	101,68 33,89*	100,08 33,36*
C _{máx} /CMI	17,36 5,79*	13,16 4,39*	15,92 5,31*	21,48 7,16*	16,32 5,44*	17,96 5,99*
<i>CMI₉₀ = 0,5 µg/mL S.aureus</i>						
AUC ₂₄ /CMI	34,24 11,41*	26,16 8,72*	39 13,00*	57 19,00*	50,84 16,95*	50,04 16,68*
C _{máx} /CMI	8,68 2,89*	6,58 2,19*	7,96 2,65*	10,74 3,58*	8,16 2,72*	8,98 2,99*
<i>CMI = 1 µg/mL S.aureus</i>						
AUC ₂₄ /CMI	17,12 5,71*	13,08 4,36*	19,5 6,50*	28,5 9,50*	25,42 8,47*	25,02 8,34*
C _{máx} /CMI	4,34 1,45*	3,29 1,10*	3,98 1,33*	5,37 1,79*	4,08 1,36*	4,49 1,50*

C

P407-CARBOXIMETILCELULOSA (SC2)						
	Cabra A	Cabra B	Cabra C	Cabra D	Cabra E	Cabra F
<i>CMI = 0,12 µg/mL S.aureus</i>						
<i>AUC₂₄/CMI</i>	167,67 55,89*	145,67 48,56*	141,58 47,19*	118,42 39,47*	143,50 47,83*	149,92 49,97*
<i>C_{máx}/CMI</i>	25,67 8,56*	24,58 8,19*	20,75 6,92*	18,58 6,19*	26,92 8,97*	24,75 8,25*
<i>CMI₅₀ = 0,25 µg/mL S.aureus</i>						
<i>AUC₂₄/CMI</i>	80,48 26,83*	69,92 23,31*	67,96 22,65*	56,84 18,95*	68,88 22,96*	71,96 23,99*
<i>C_{máx}/CMI</i>	12,32 4,11*	11,8 3,93*	9,96 3,32*	8,92 2,97*	12,92 4,31*	11,88 3,96*
<i>CMI₉₀ = 0,5 µg/mL S.aureus</i>						
<i>AUC₂₄/CMI</i>	40,24 13,41*	34,96 11,65*	33,98 11,33*	28,42 9,47*	34,44 11,48*	35,98 11,99*
<i>C_{máx}/CMI</i>	6,16 2,05*	5,9 1,97*	4,98 1,66*	4,46 1,49*	6,46 2,15*	5,94 1,98*
<i>CMI = 1 µg/mL S.aureus</i>						
<i>AUC₂₄/CMI</i>	20,12 6,71*	17,48 5,83*	16,99 5,66*	14,21 4,74*	17,22 5,74*	17,99 6,00*
<i>C_{máx}/CMI</i>	3,08 1,03*	2,95 0,9833*	2,49 0,8300*	2,23 0,7433*	3,23 1,08*	2,97 0,9900*

Parámetros farmacocinético-farmacodinámicos correspondientes a danofloxacino frente a aislados de *Staphylococcus aureus* en leche de cabra calculados tras la administración de una dosis de 6 mg/kg por vía subcutánea (A), y tras una dosis de 18 mg/kg por vía subcutánea en formulación de liberación sostenida con gel P407 (C) y con gel P407 y carboximetilcelulosa (D). *Valores de ratio AUC_{24} / CMI y $C_{máx} / CMI$ de danofloxacino, obtenidos para plasma, tras la administración de danofloxacino vía SC1 y SC2, corregidos a una dosis de 6 mg/kg.

TABLA 36.- ESTADÍSTICOS PK/PD			
MEDIA ± S.D.			
	Subcutánea	P407	P407-CMC
CMI = 0,12 µg/mL <i>S.aureus</i>			
AUC / CMI	66,75 ± 4,79	178,67 ± 48,71 59,56 ± 16,24*	144,46 ± 15,86 48,15 ± 5,29*
C_{máx} / CMI	12,63 ± 2,40	35,49 ± 5,70 11,83 ± 1,90*	23,54 ± 3,19 7,85 ± 1,06*
CMI₅₀ = 0,25 µg/mL <i>S.aureus</i>			
AUC / CMI	32,04 ± 2,30	85,76 ± 23,38 28,59 ± 7,79*	69,34 ± 7,61 23,11 ± 2,54*
C_{máx} / CMI	6,06 ± 1,15	17,03 ± 2,74 5,68 ± 0,9127*	11,30 ± 1,53 3,77 ± 0,5101*
CMI₉₀ = 0,5 µg/mL <i>S.aureus</i>			
AUC / CMI	16,02 ± 1,15	42,88 ± 11,69 14,29 ± 3,90*	34,67 ± 3,81 11,56 ± 1,27*
C_{máx} / CMI	3,03 ± 0,5750	8,52 ± 1,37 2,84 ± 0,4564*	5,65 ± 0,7652 1,88 ± 0,2551*
CMI = 1 µg/mL <i>S.aureus</i>			
AUC / CMI	8,01 ± 0,58	21,44 ± 5,84 7,15 ± 1,95*	17,34 ± 1,90 5,78 ± 0,6343*
C_{máx} / CMI	1,52 ± 0,2875	4,26 ± 0,6846 1,42 ± 0,2282*	2,83 ± 0,3826 0,9417 ± 0,1275*
<p>Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos-farmacodinámicos correspondientes a danofloxacino frente a aislados de <i>Staphylococcus aureus</i> en leche de cabra calculados tras la administración de una dosis de 6 mg/kg por vía subcutánea, y tras una dosis de 18 mg/kg por vía subcutánea en formulación de liberación sostenida con gel P407 y con gel P407 y carboximetilcelulosa. *Valores de ratio AUC₂₄ / CMI y C_{máx} / CMI de danofloxacino, obtenidos para plasma, tras la administración de danofloxacino por vía SC1 y SC2, corregidos a una dosis de 6 mg/kg.</p>			

10.2- GRÁFICOS

Gráfico 1- CONCENTRACIONES MEDIAS-TIEMPO, IV

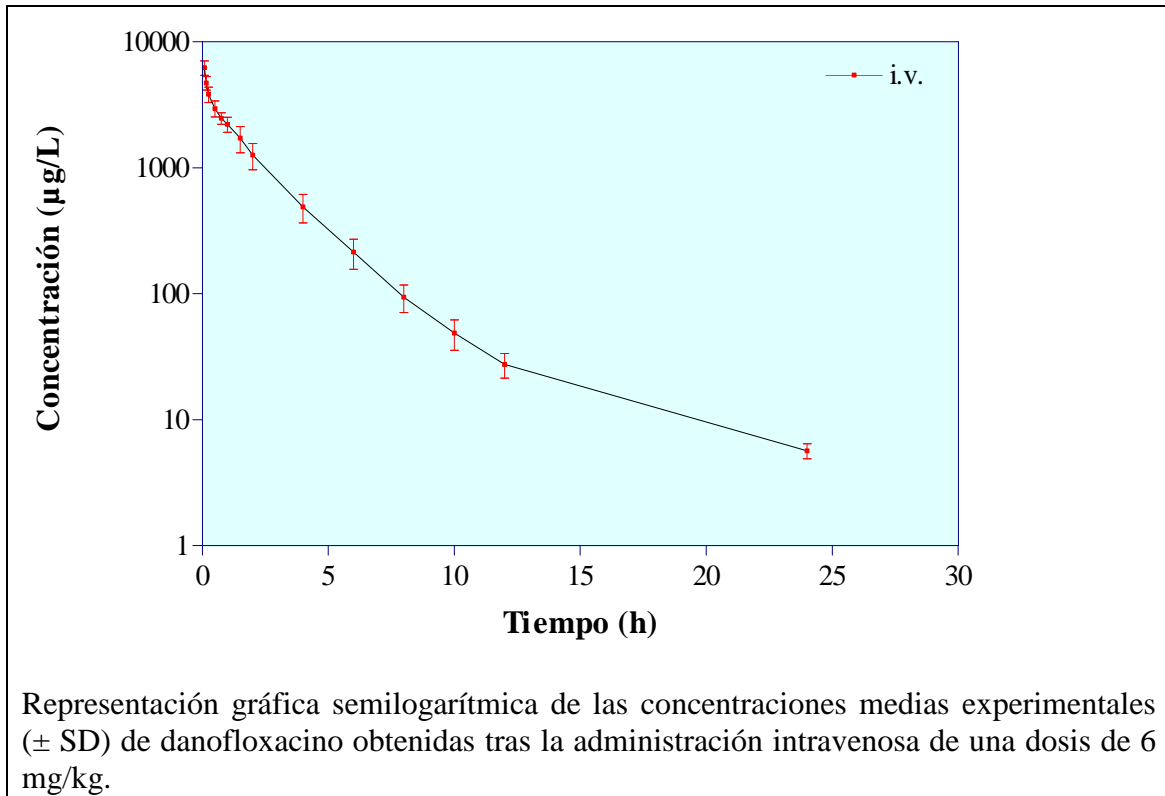


Gráfico 2- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, IV CABRA A

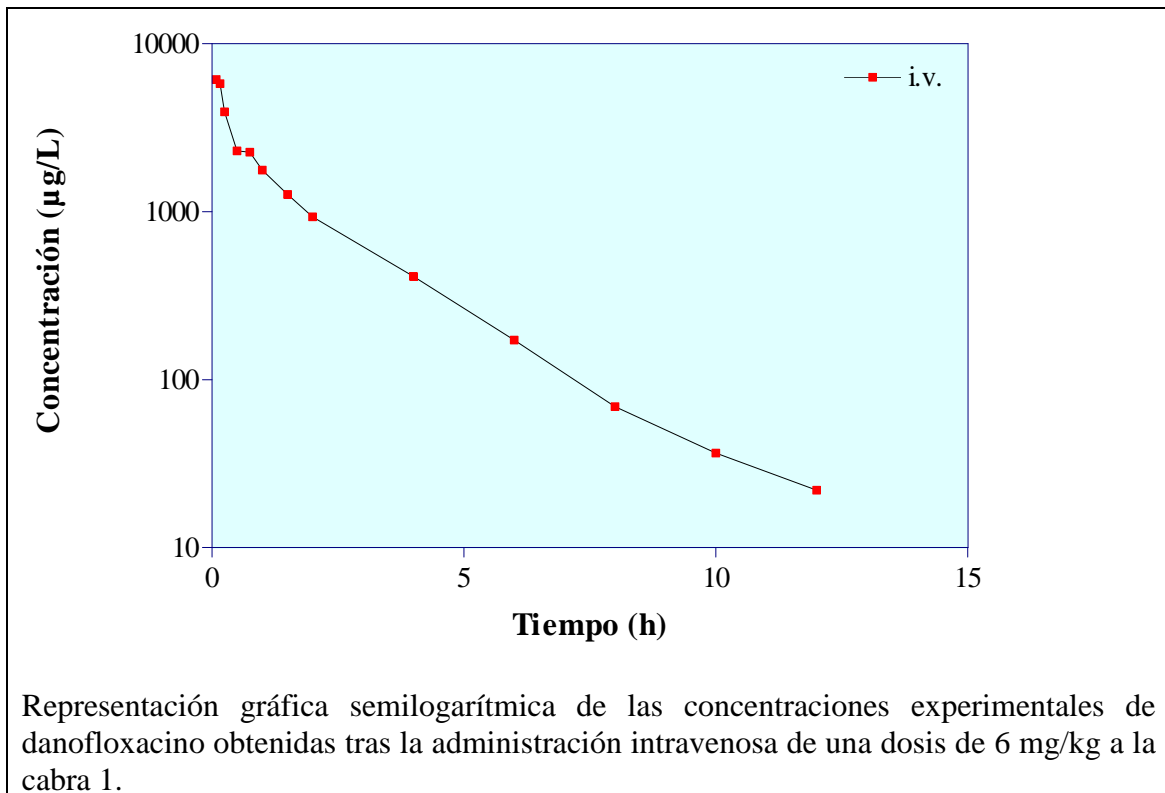


Gráfico 3- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, IV CABRA B

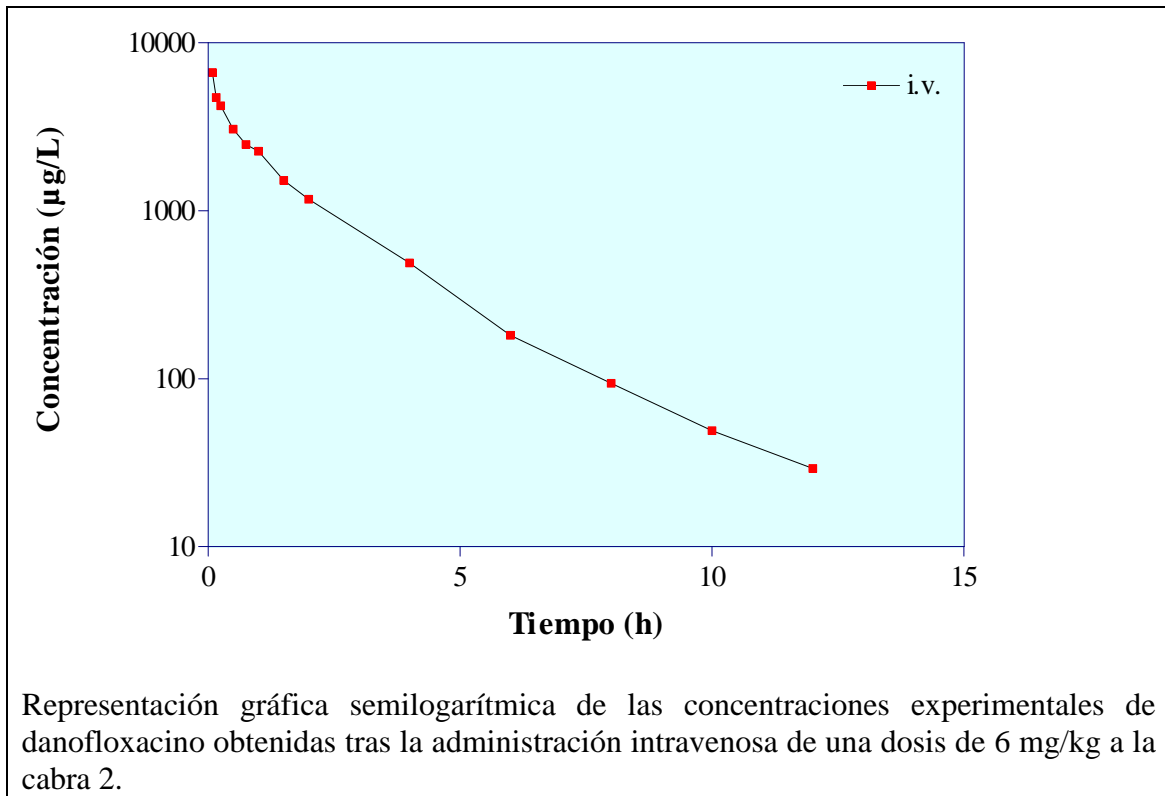


Gráfico 4- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, IV CABRA C

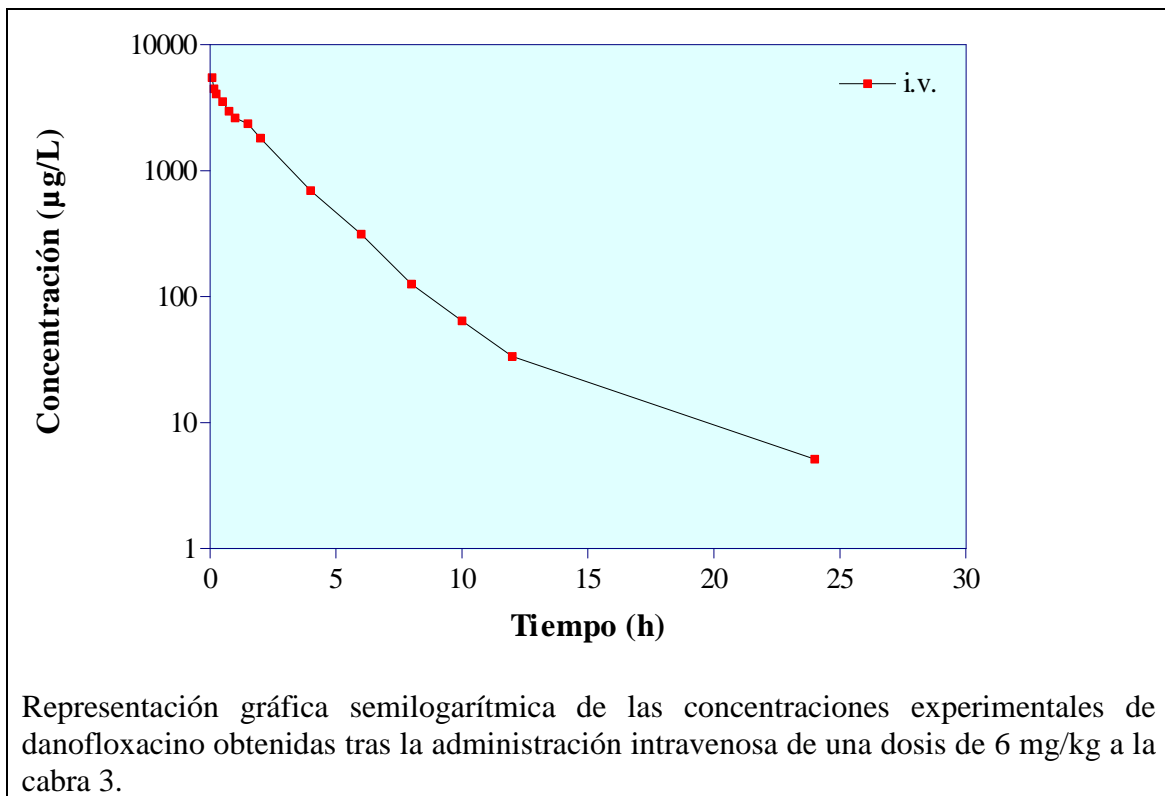


Gráfico 5- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, IV CABRA D

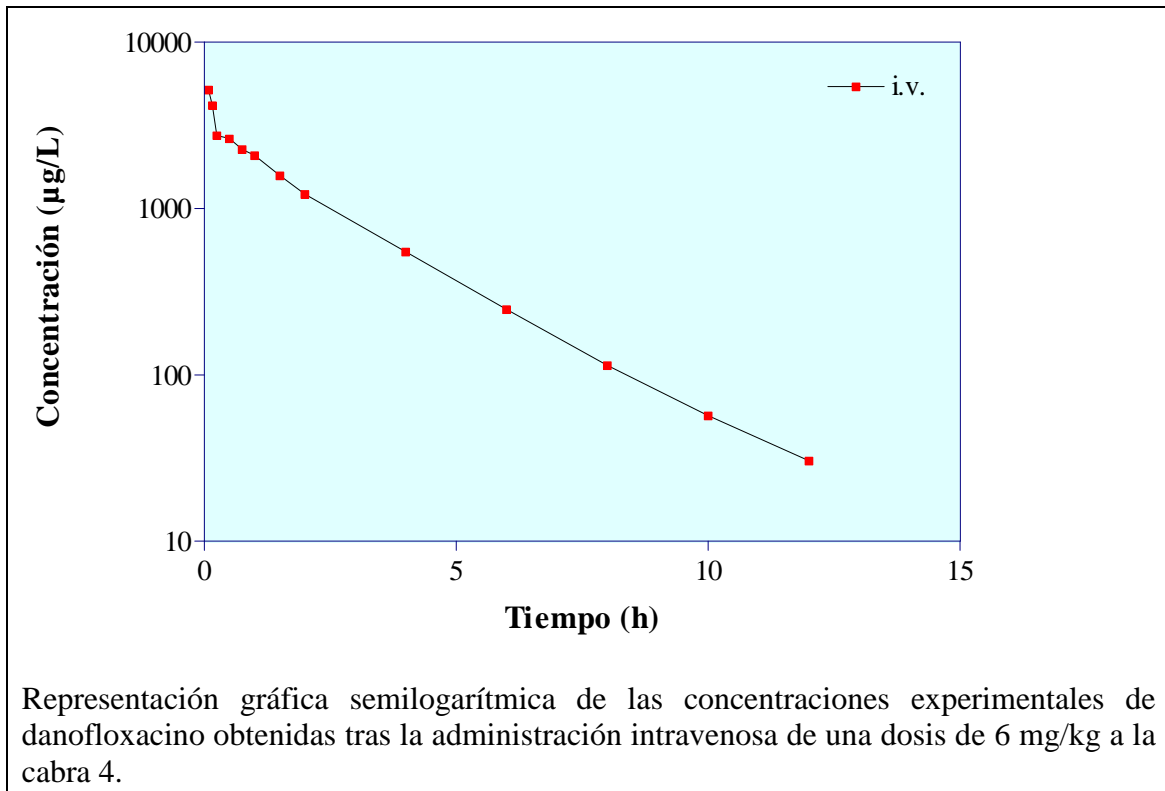


Gráfico 6- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, IV CABRA E

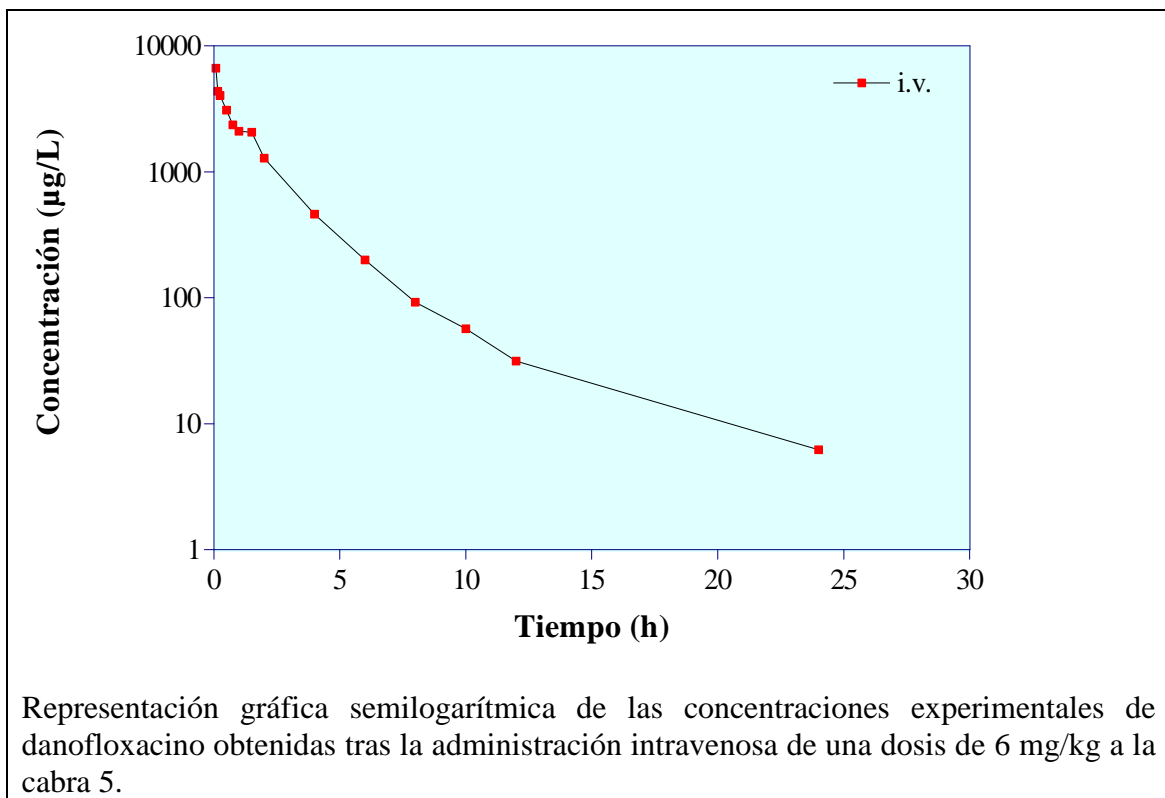


Gráfico 7- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, IV CABRA F

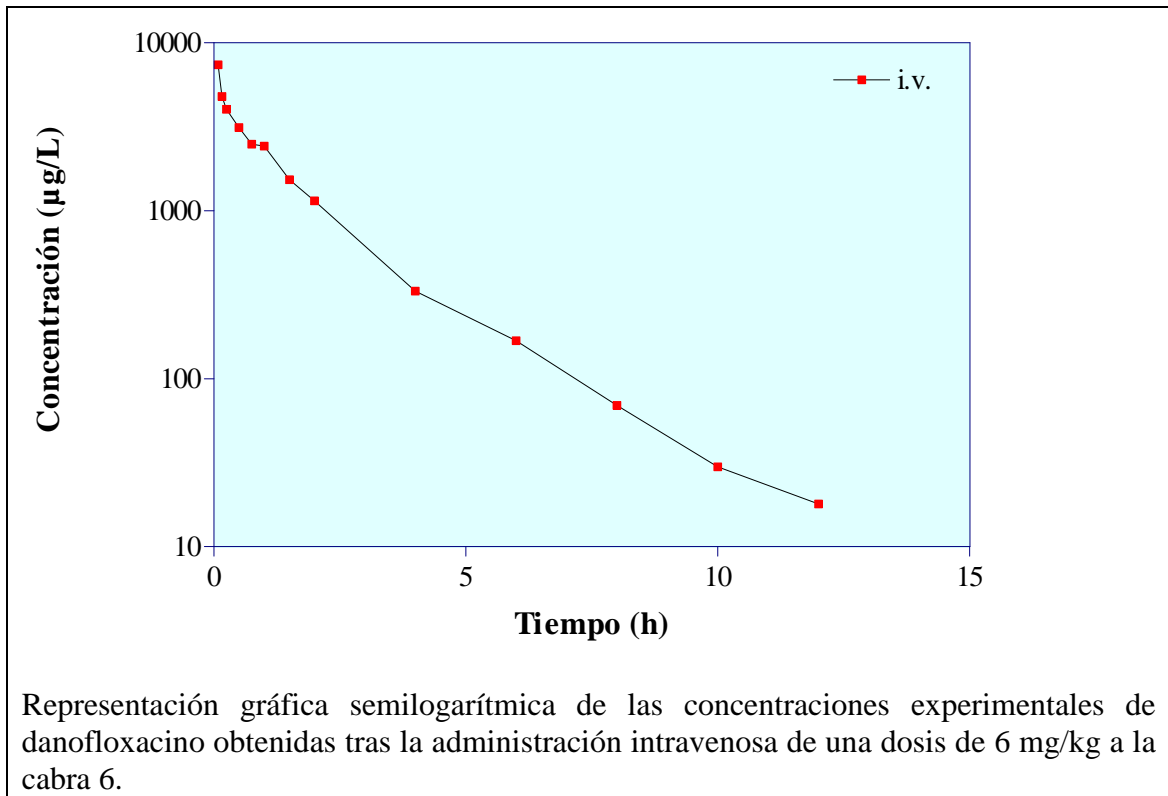


Gráfico 8- CONCENTRACIONES MEDIAS-TIEMPO, SC

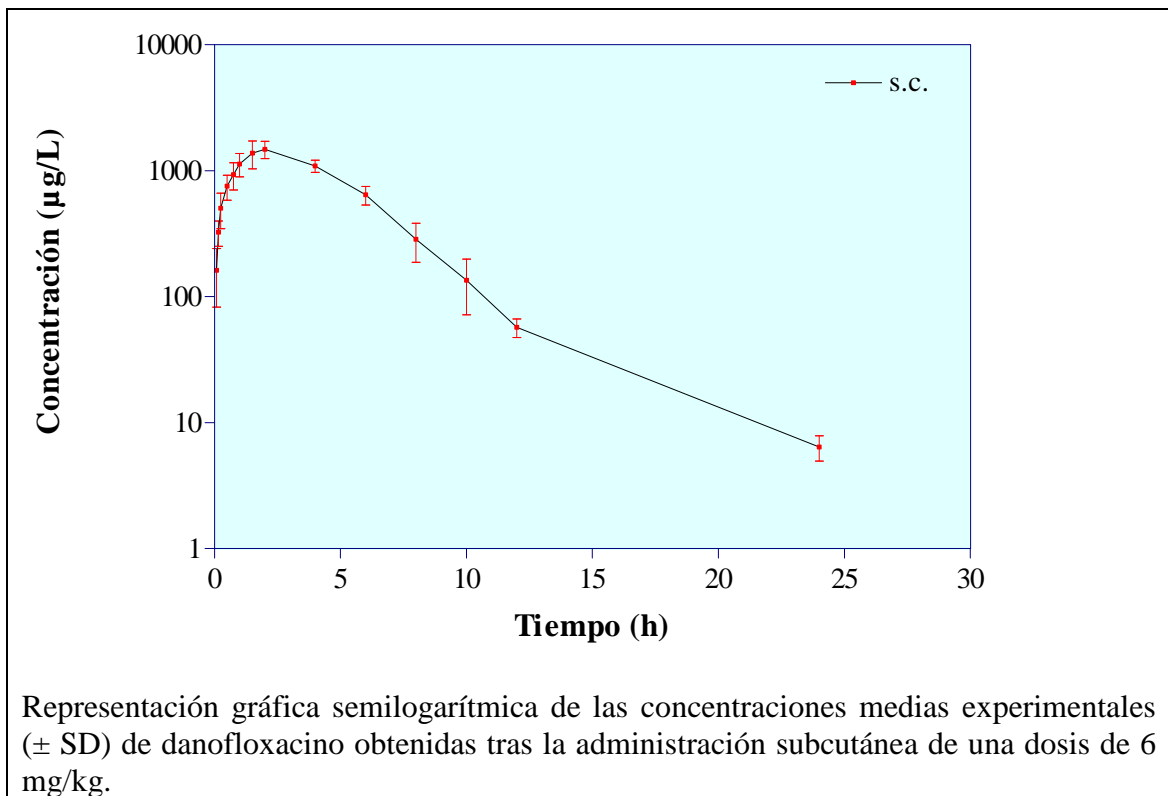


Gráfico 9- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC CABRA A

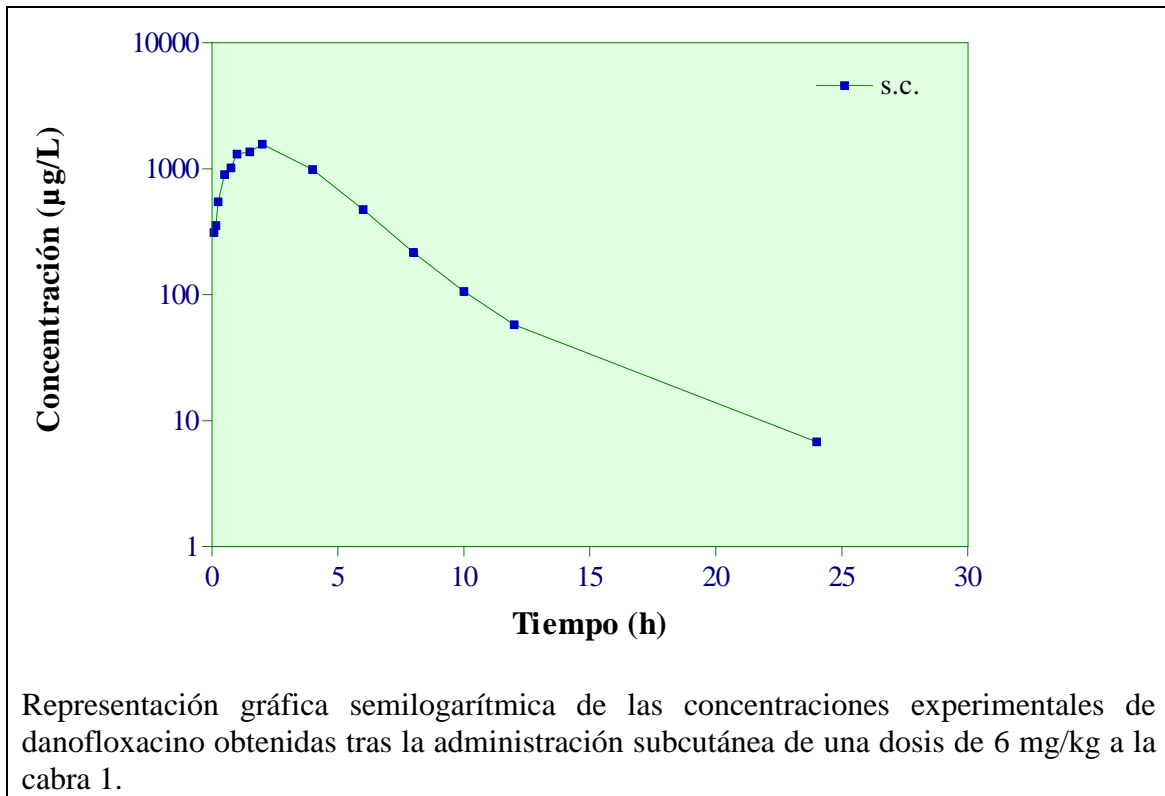


Gráfico 10- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC CABRA B

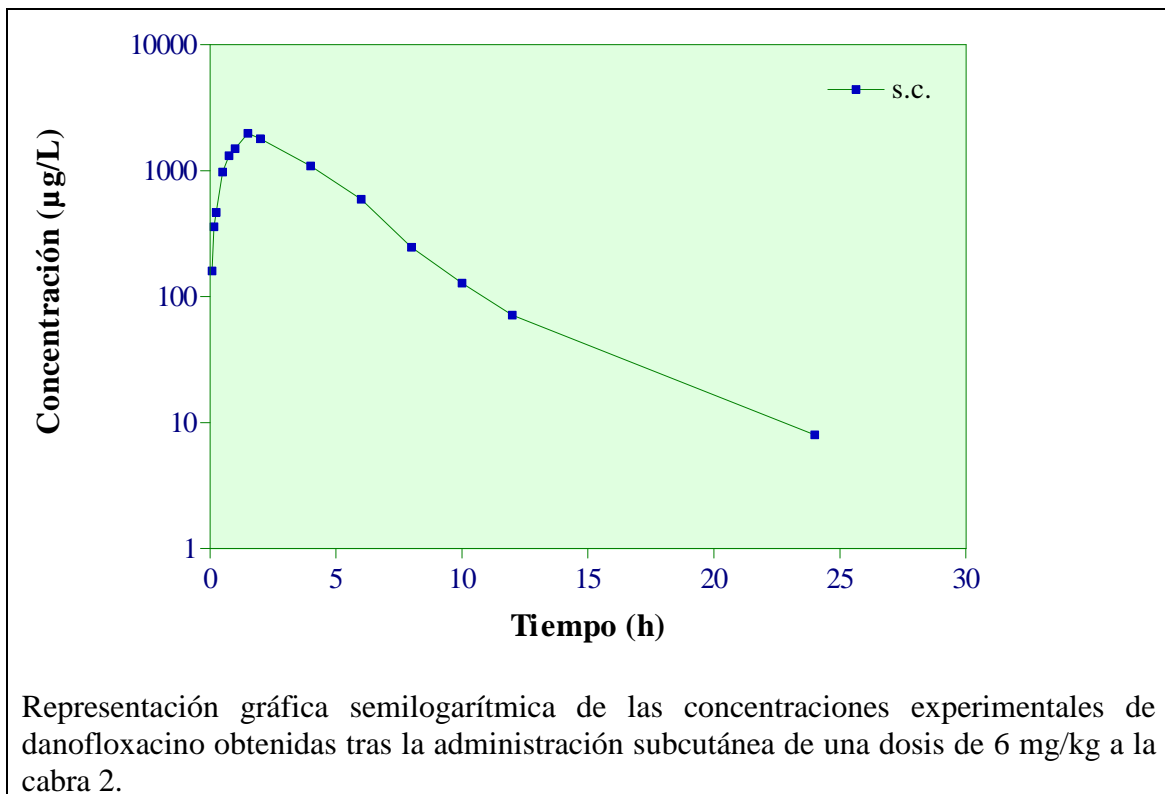


Gráfico 11- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC CABRA C

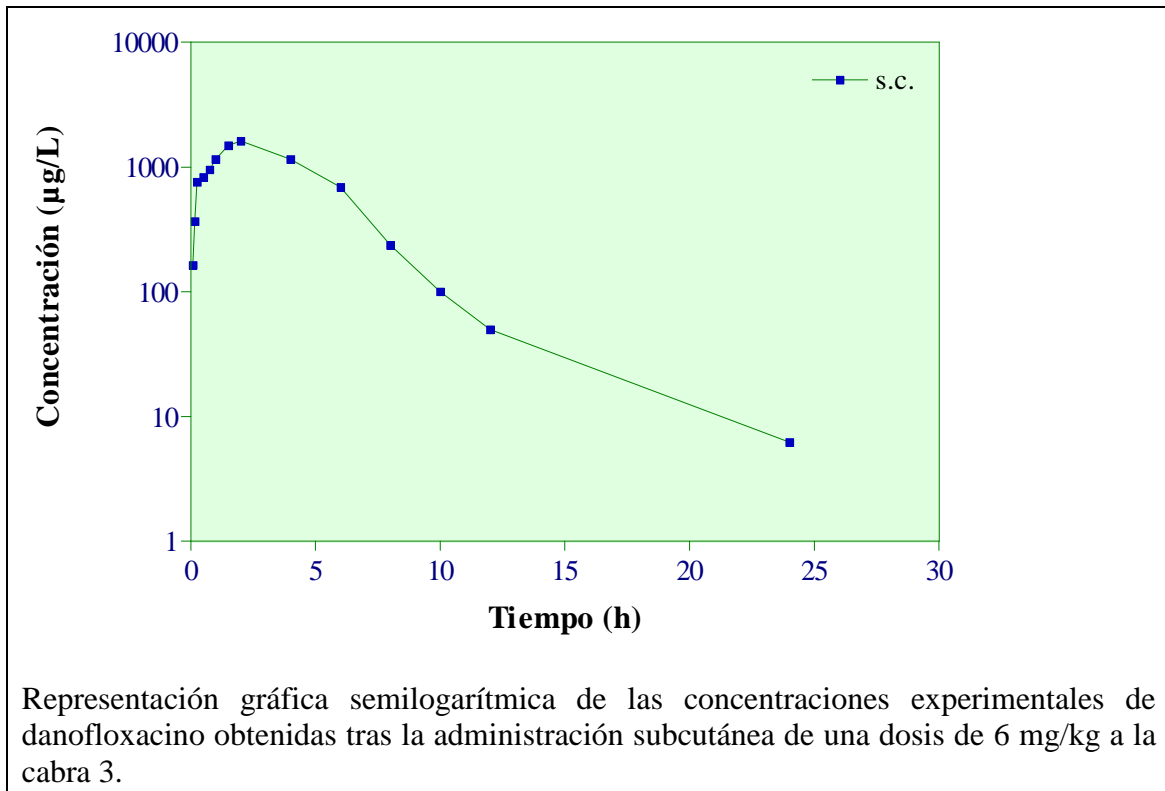


Gráfico 12- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC CABRA D

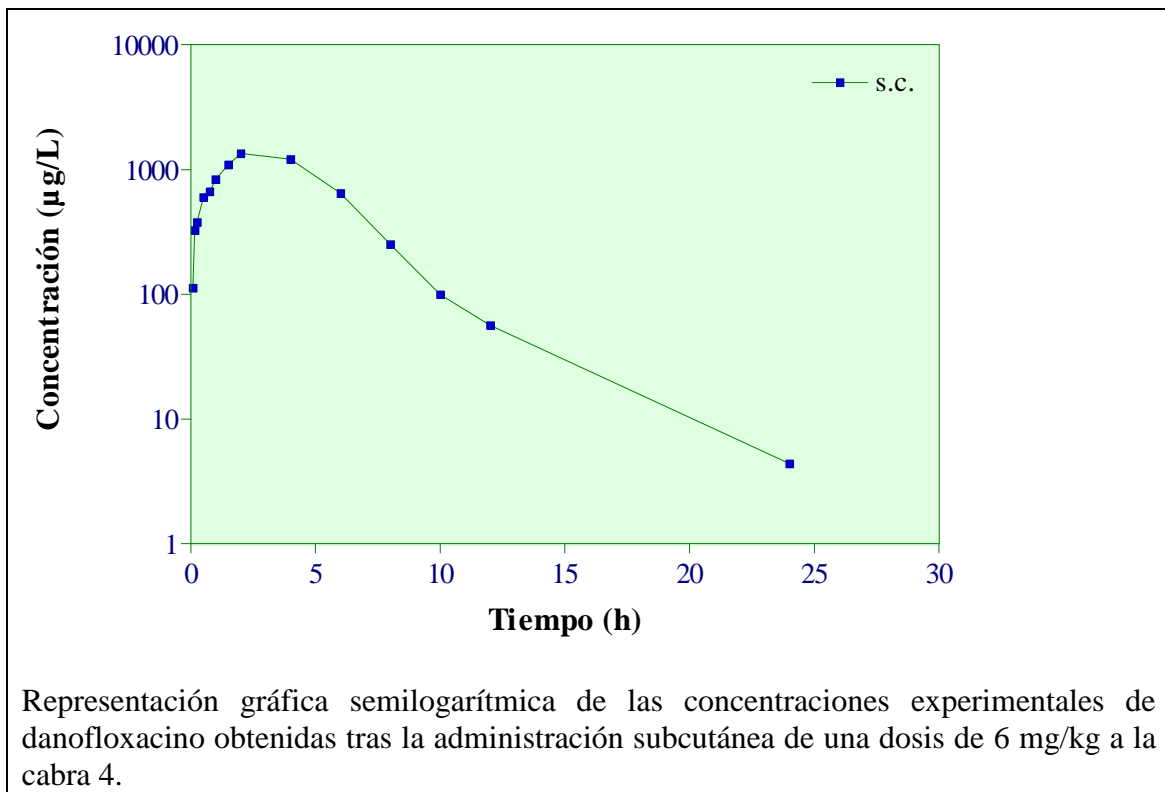


Gráfico 13- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC CABRA E

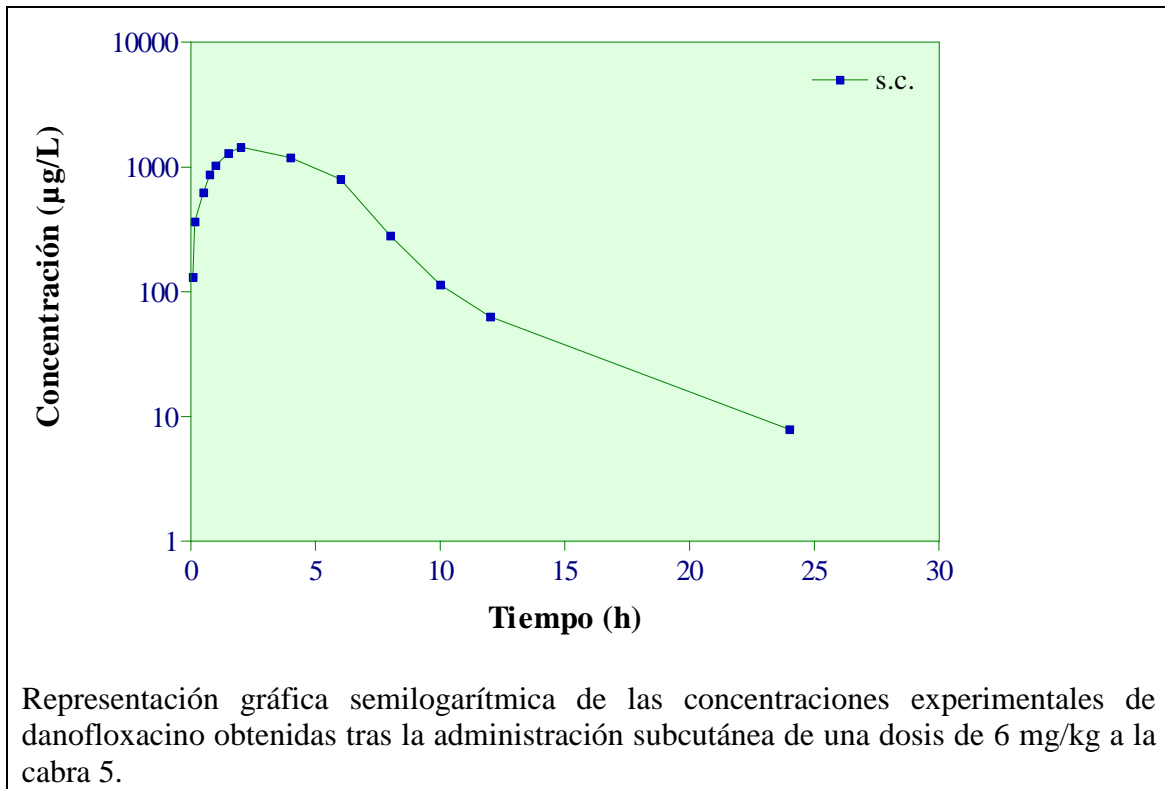


Gráfico 14- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC CABRA F

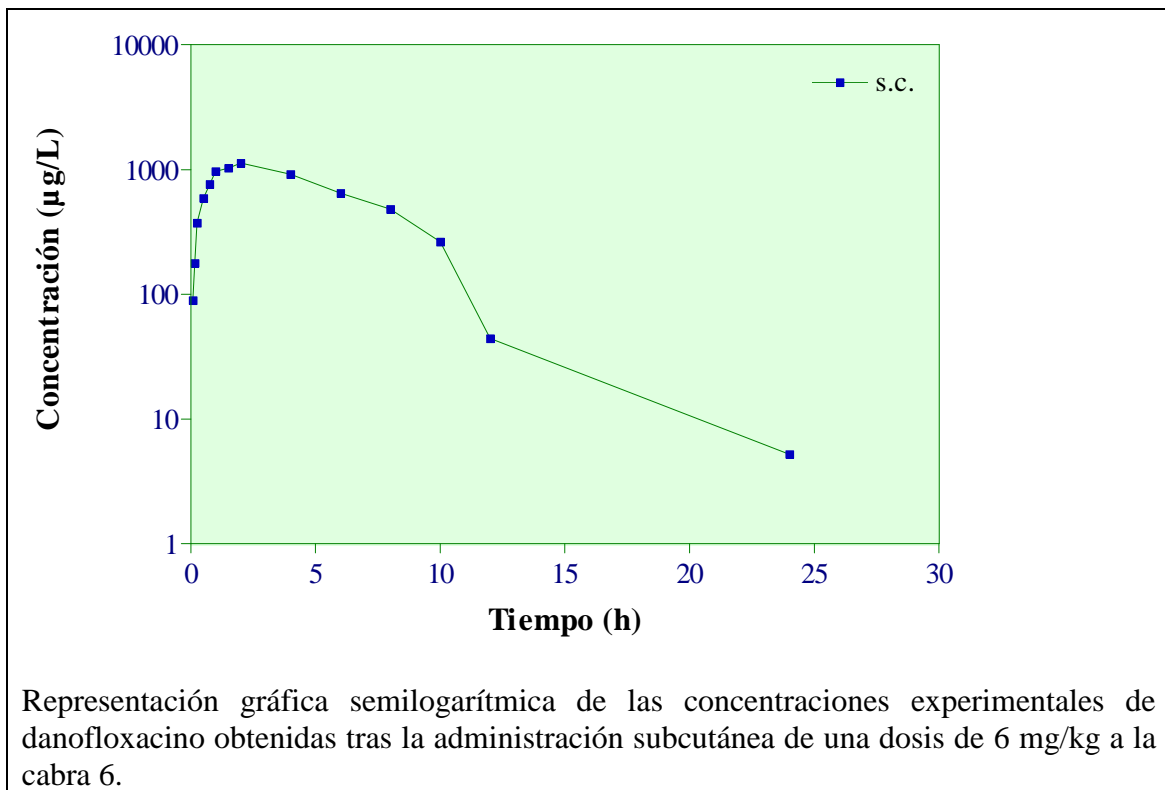


Gráfico 15- CONCENTRACIONES MEDIAS-TIEMPO, SC-P407

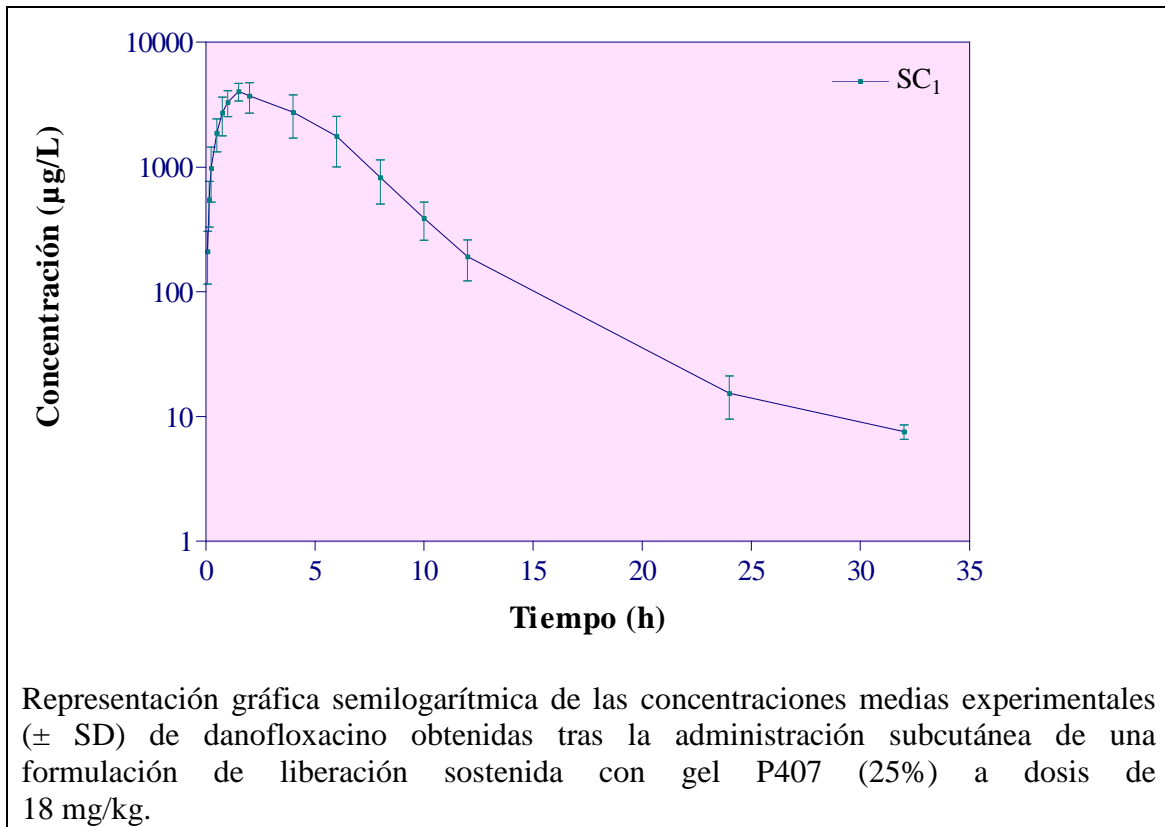


Gráfico 16- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407 CABRA A

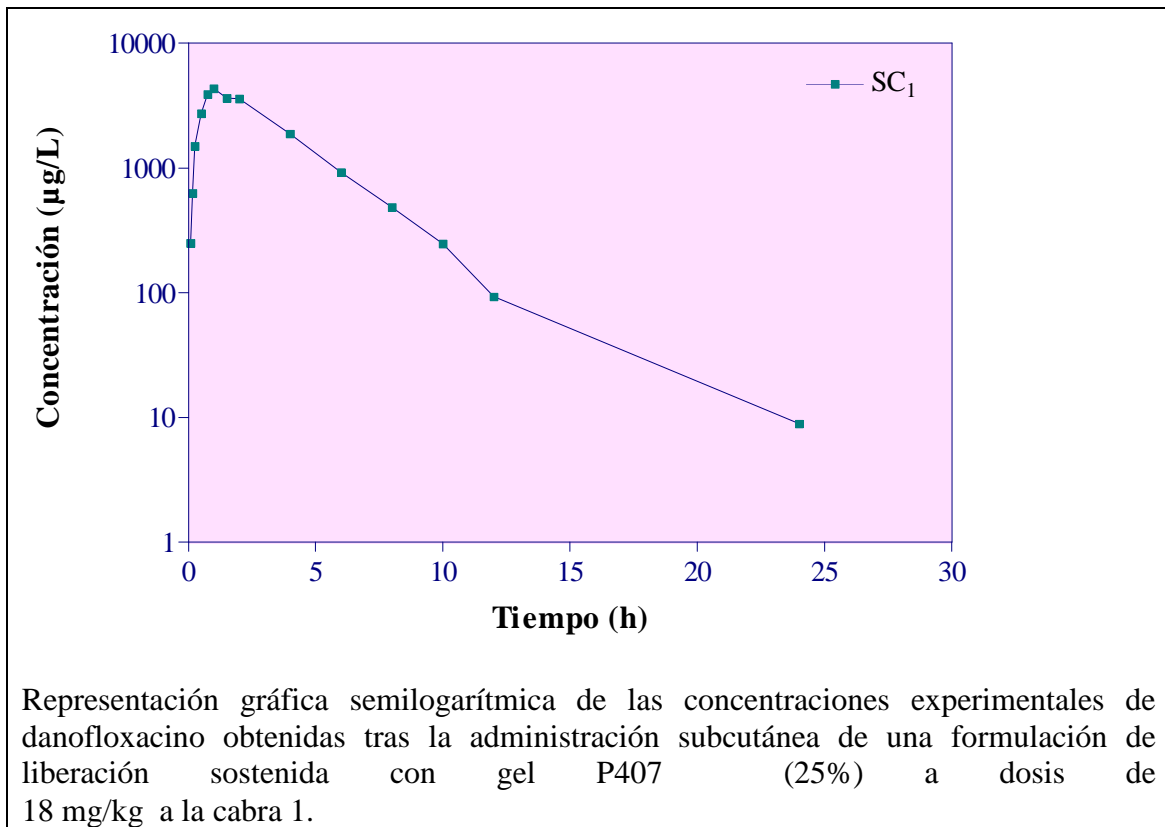


Gráfico 17- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407 CABRA B

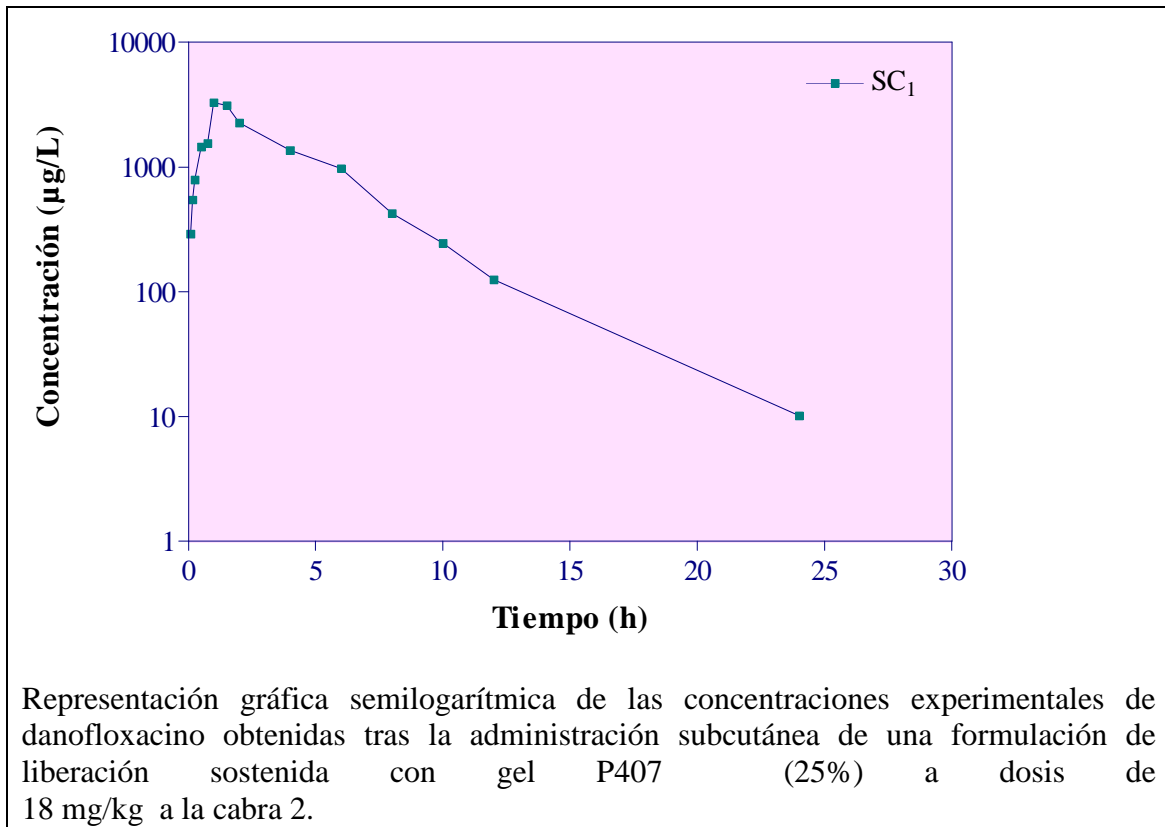


Gráfico 18- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407 CABRA C

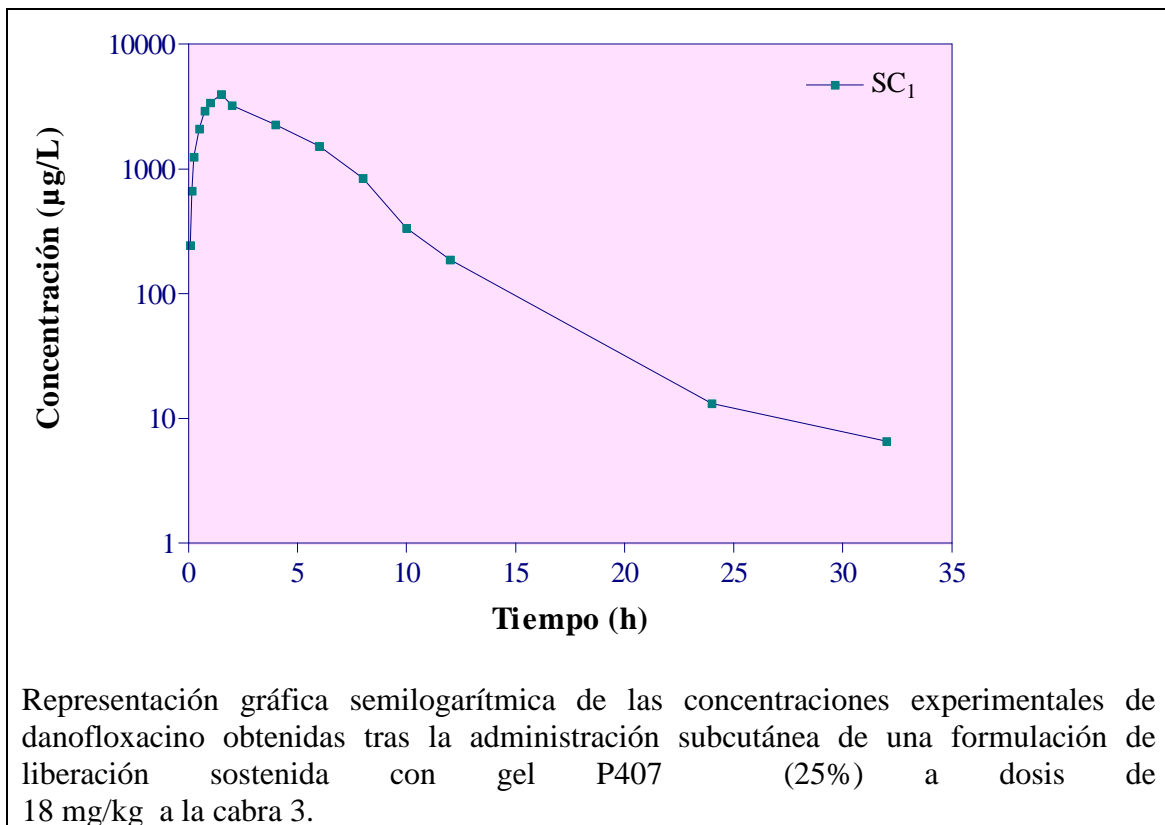


Gráfico 19- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407 CABRA D

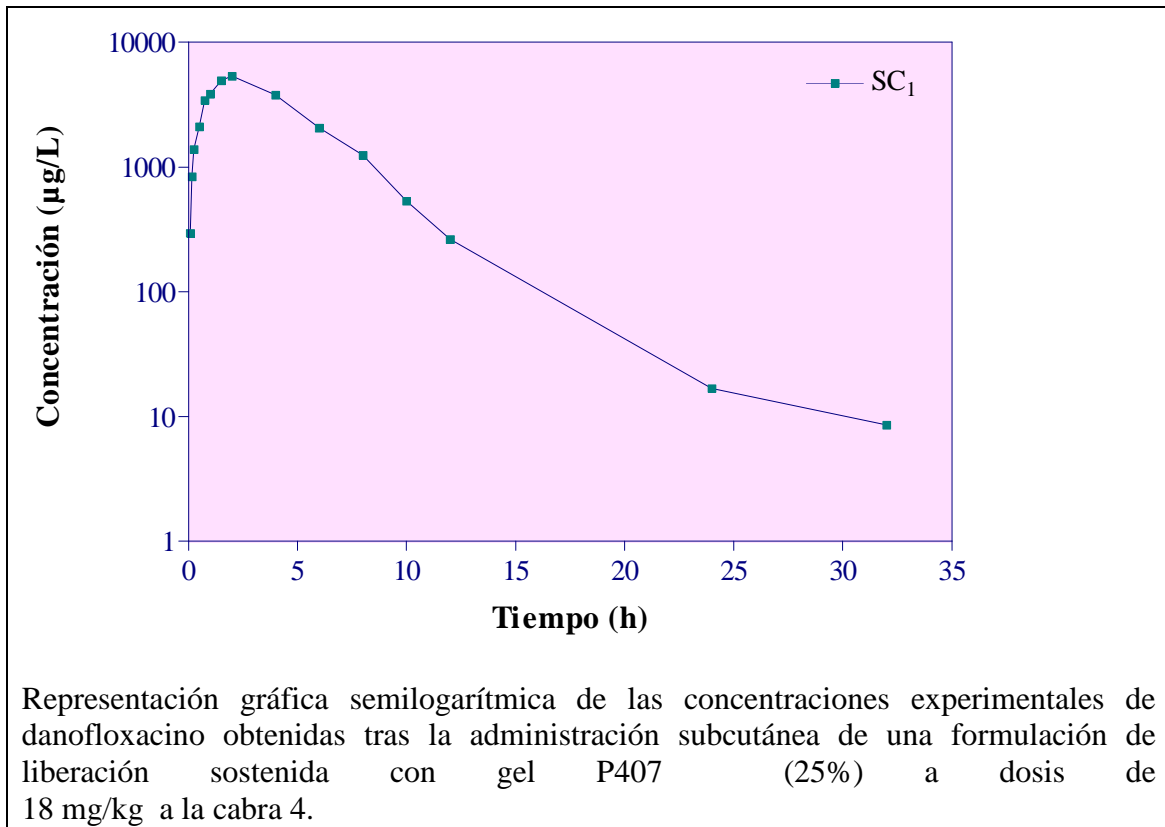


Gráfico 20- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407 CABRA E

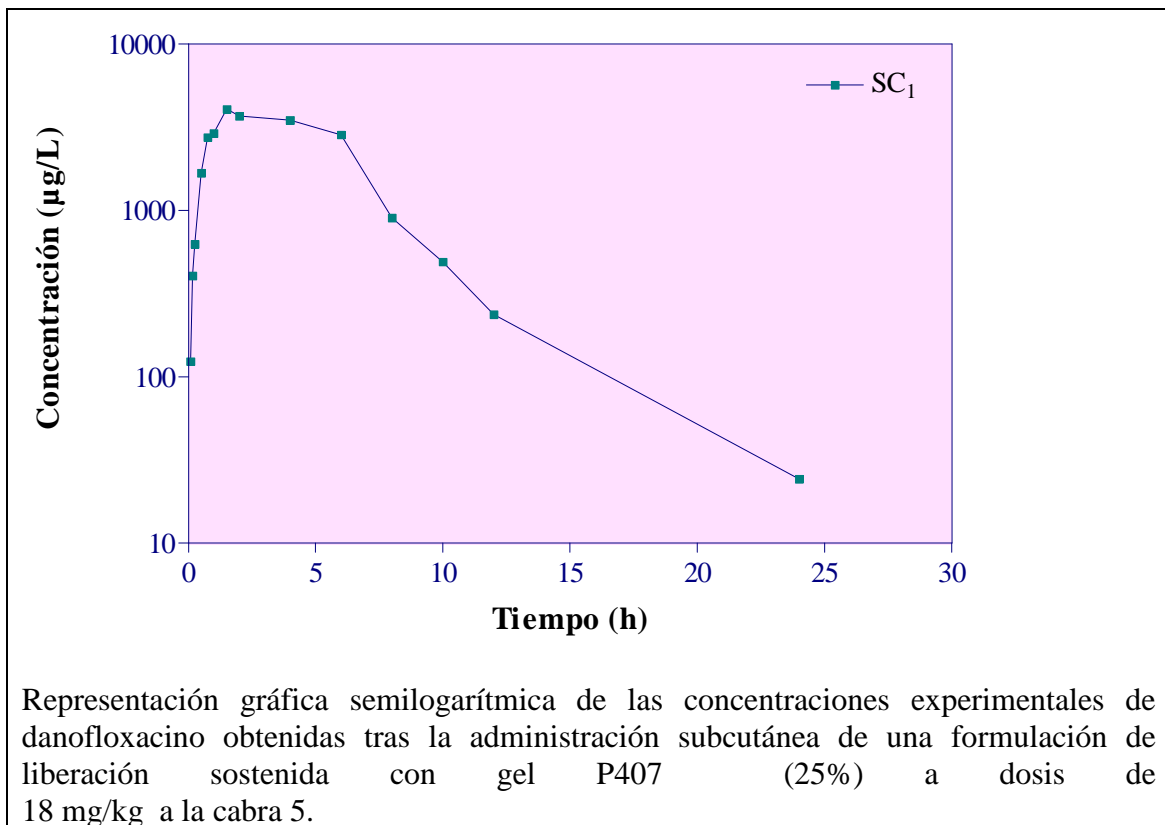


Gráfico 21- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407 CABRA F

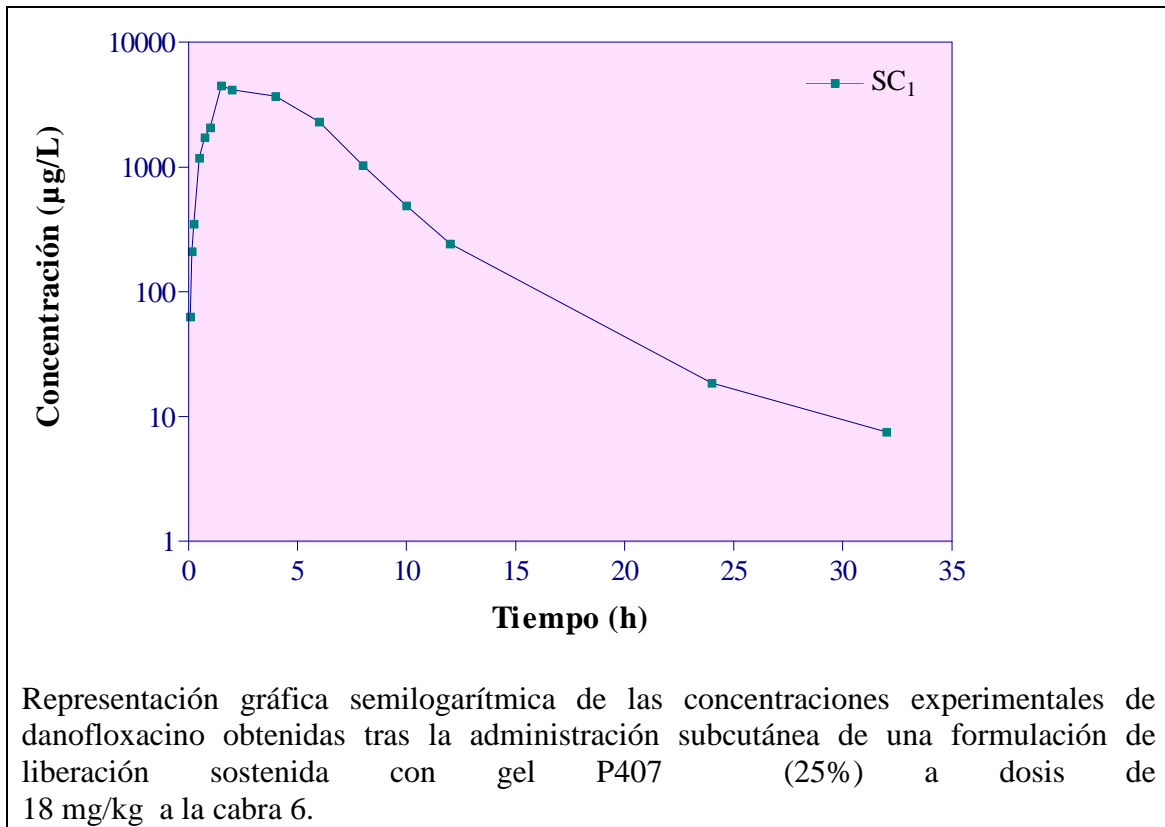


Gráfico 22- CONCENTRACIONES MEDIAS-TIEMPO, SC-P407-CMC

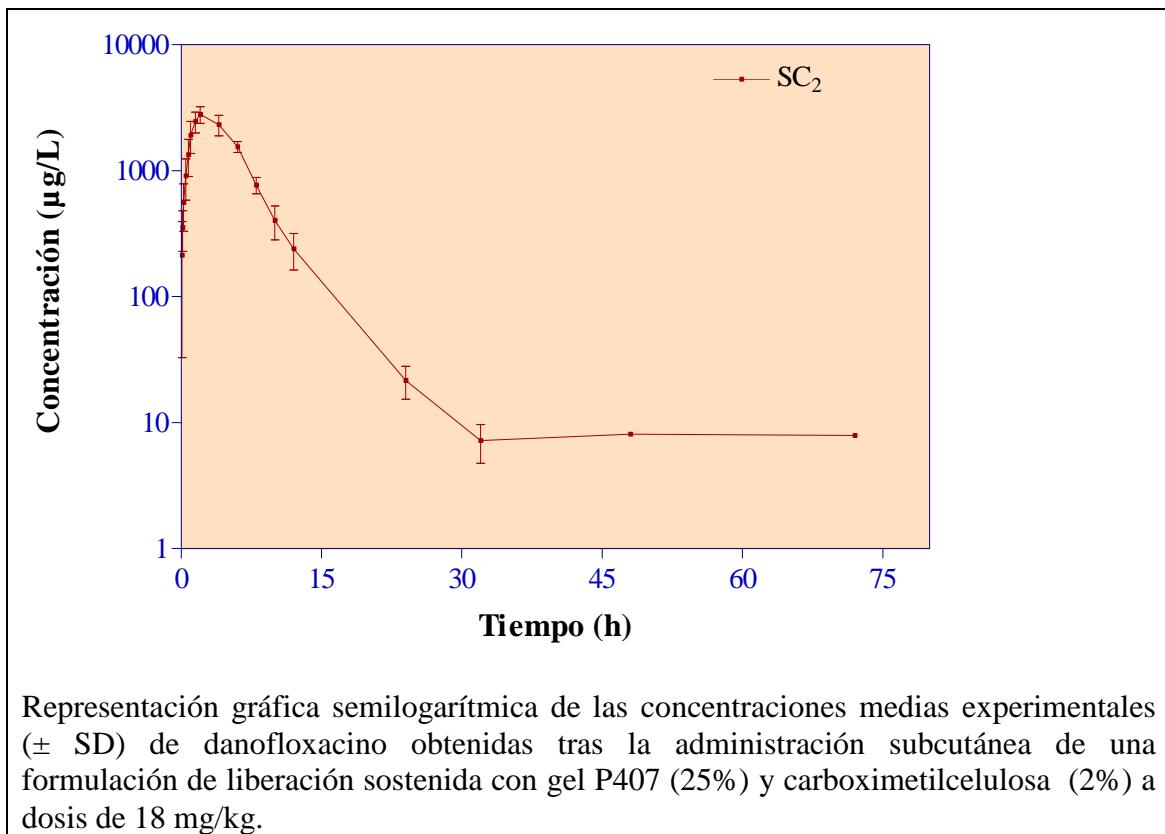


Gráfico 23- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407-CMC CABRA A

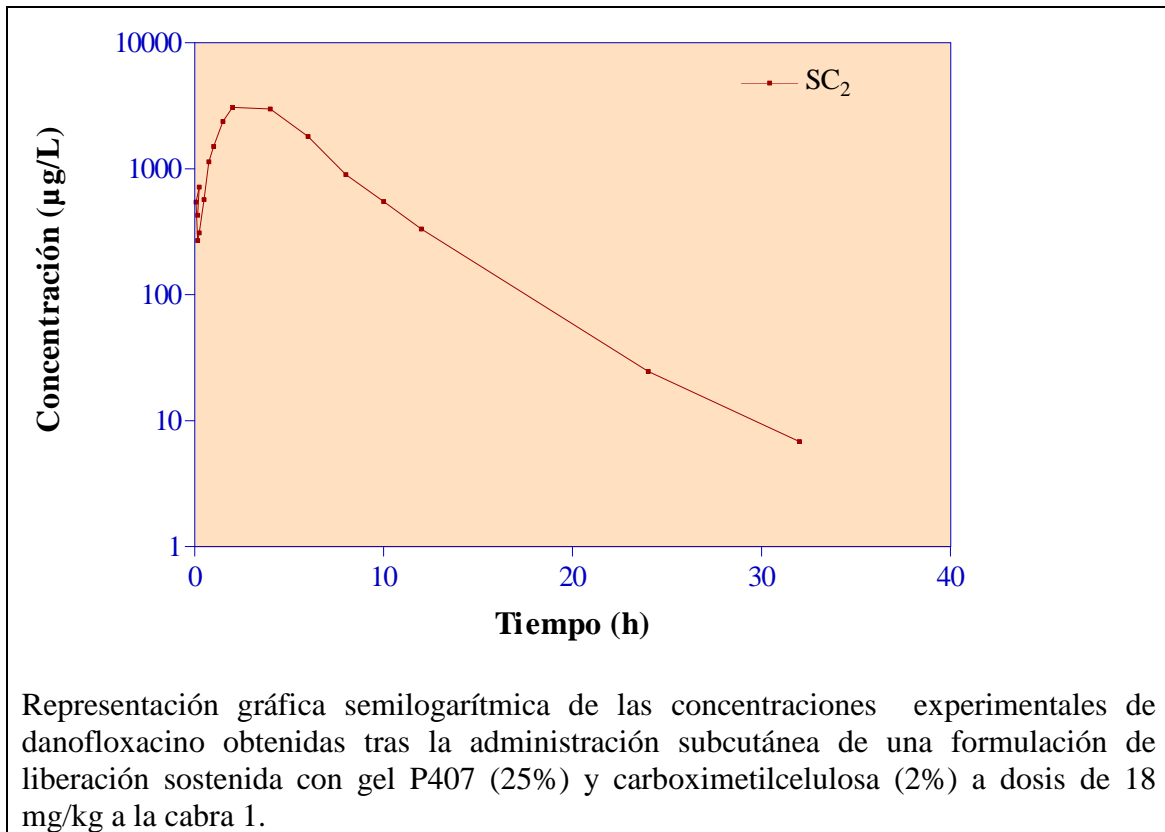


Gráfico 24- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407-CMC CABRA B

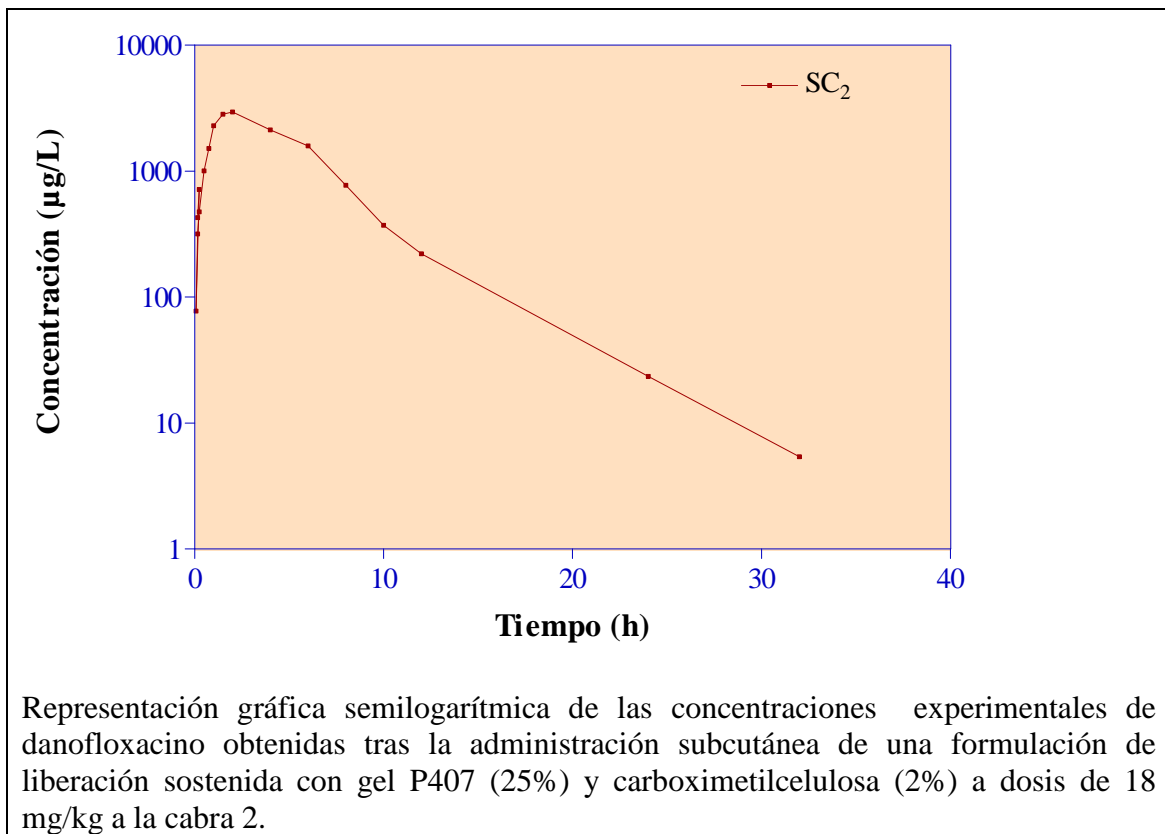


Gráfico 25- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407-CMC CABRA C

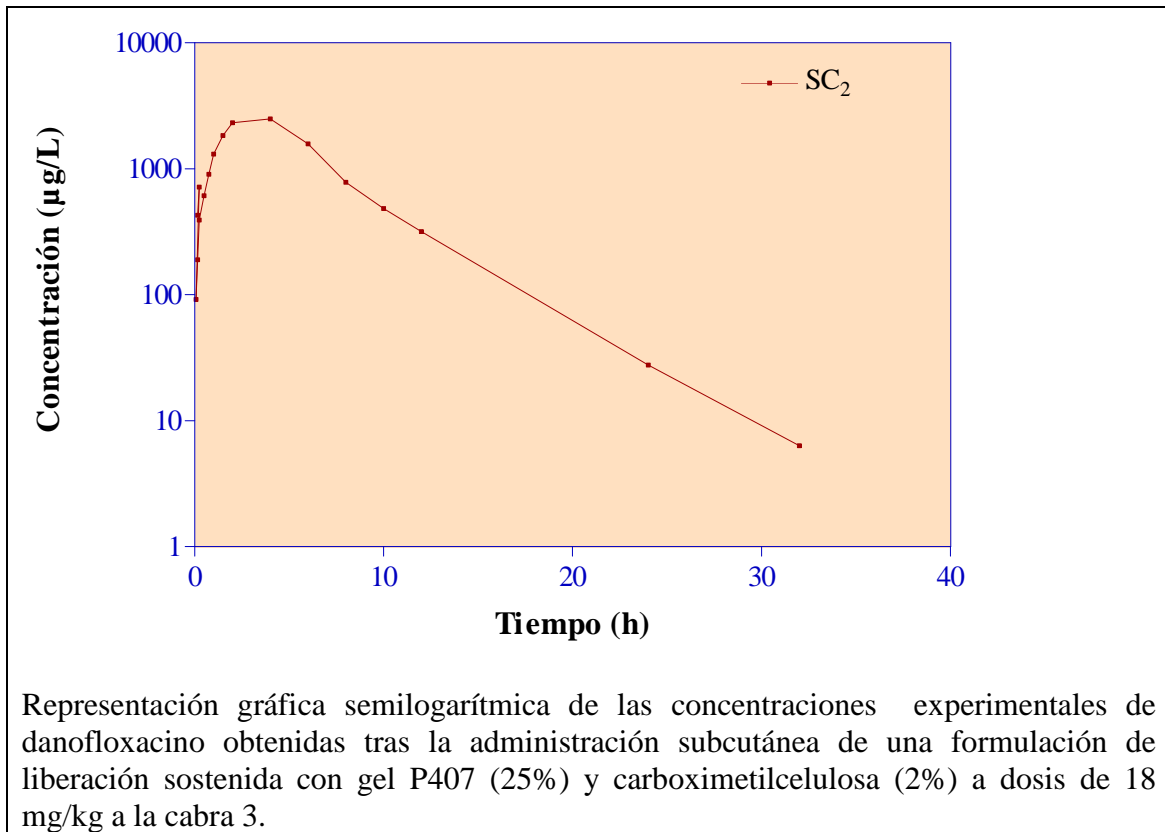


Gráfico 26- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407-CMC CABRA D

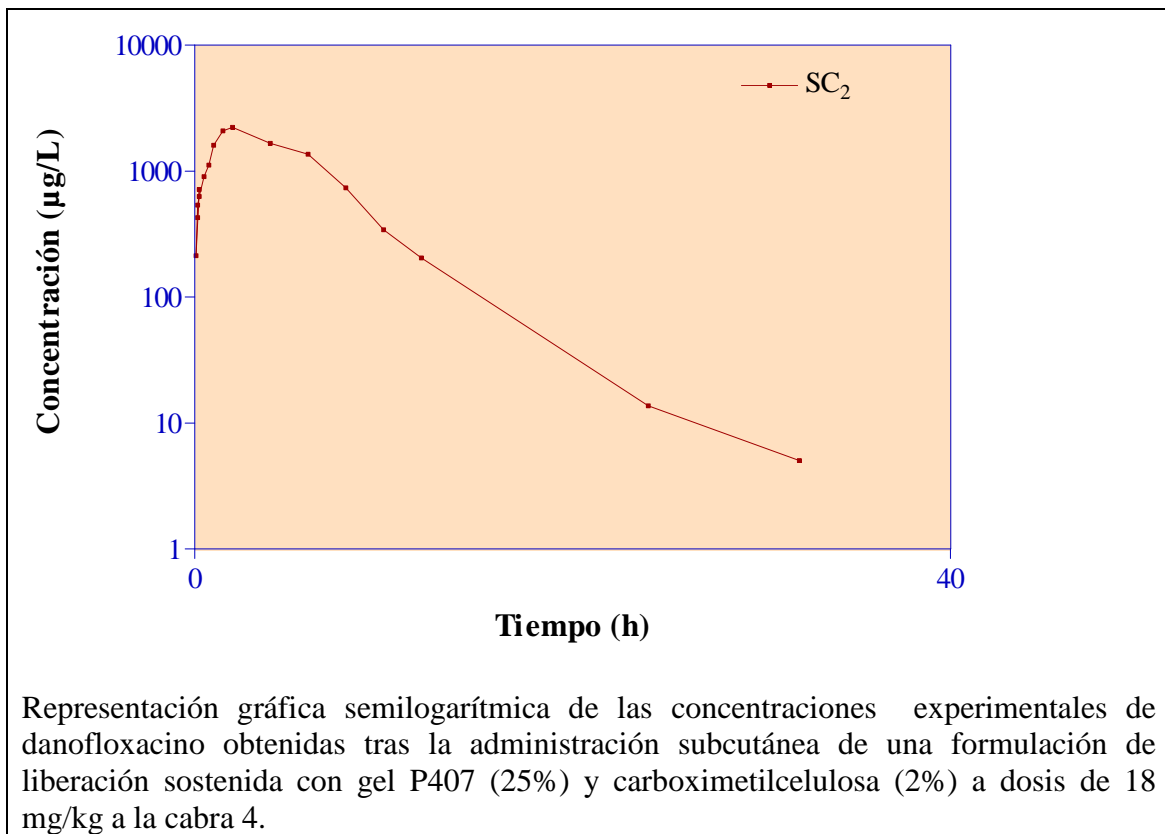


Gráfico 27- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407-CMC CABRA E

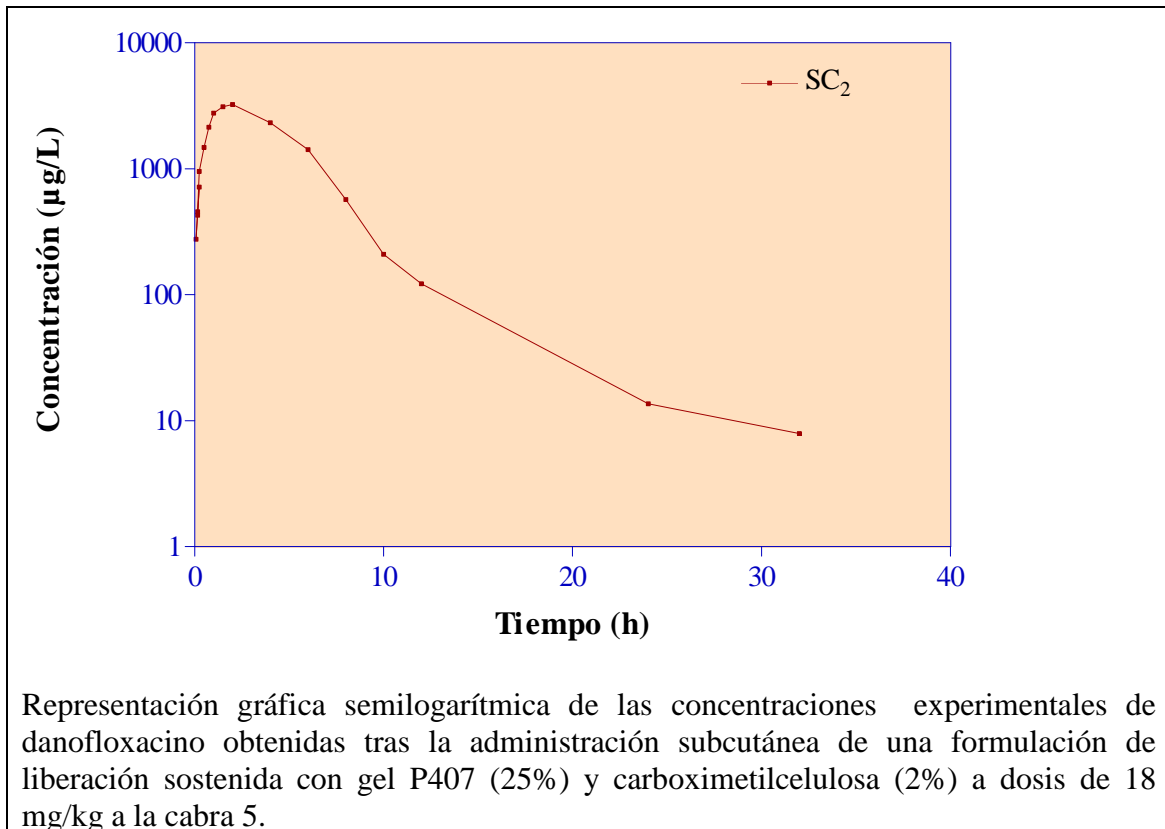


Gráfico 28- CONCENTRACIÓN-TIEMPO, SC-P407-CMC CABRA F

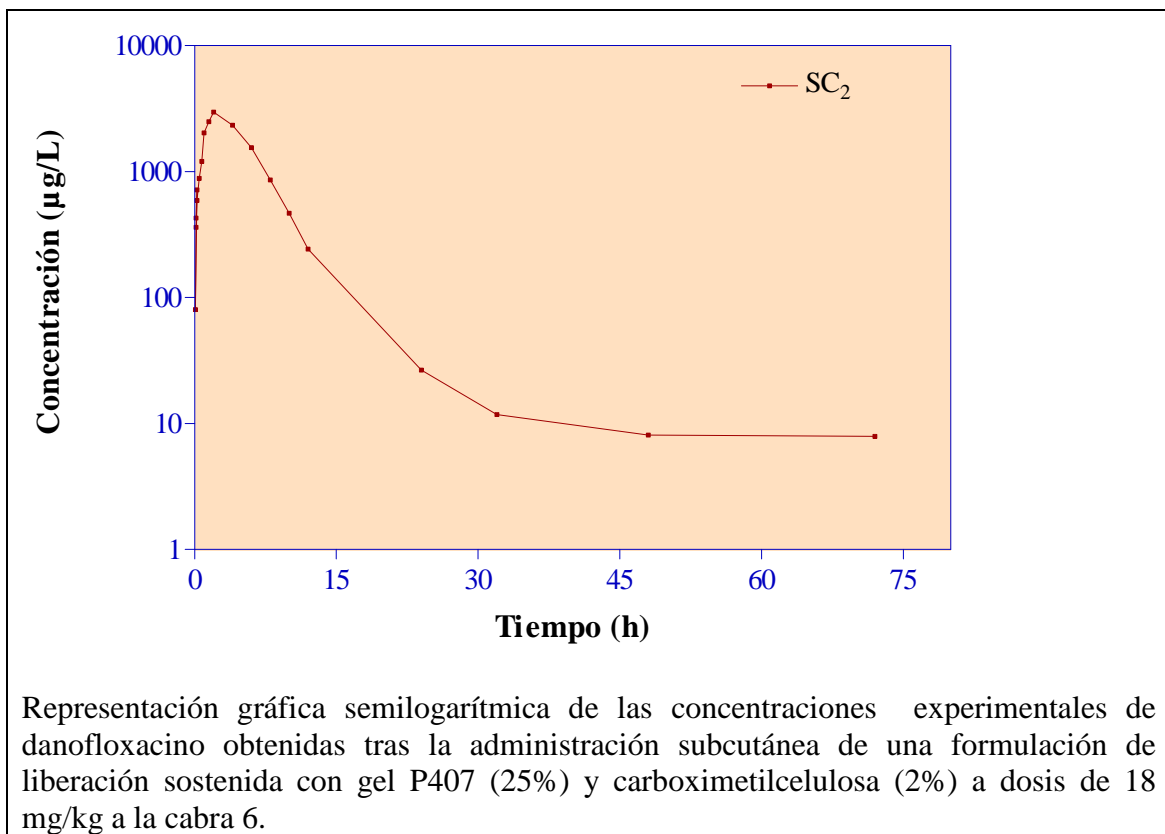


Gráfico 29- CONCENTRACIONES MEDIAS IV, SC-P407 Y SC-P407-CMC

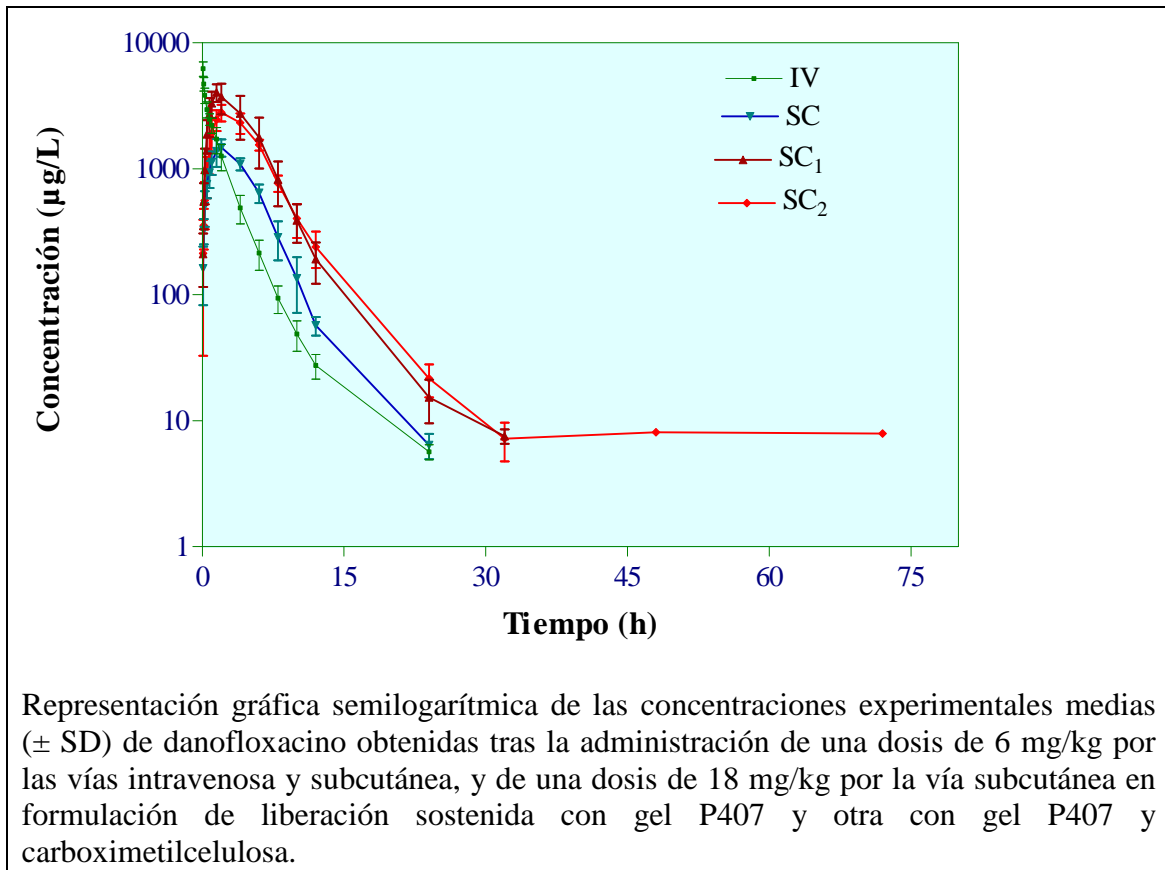
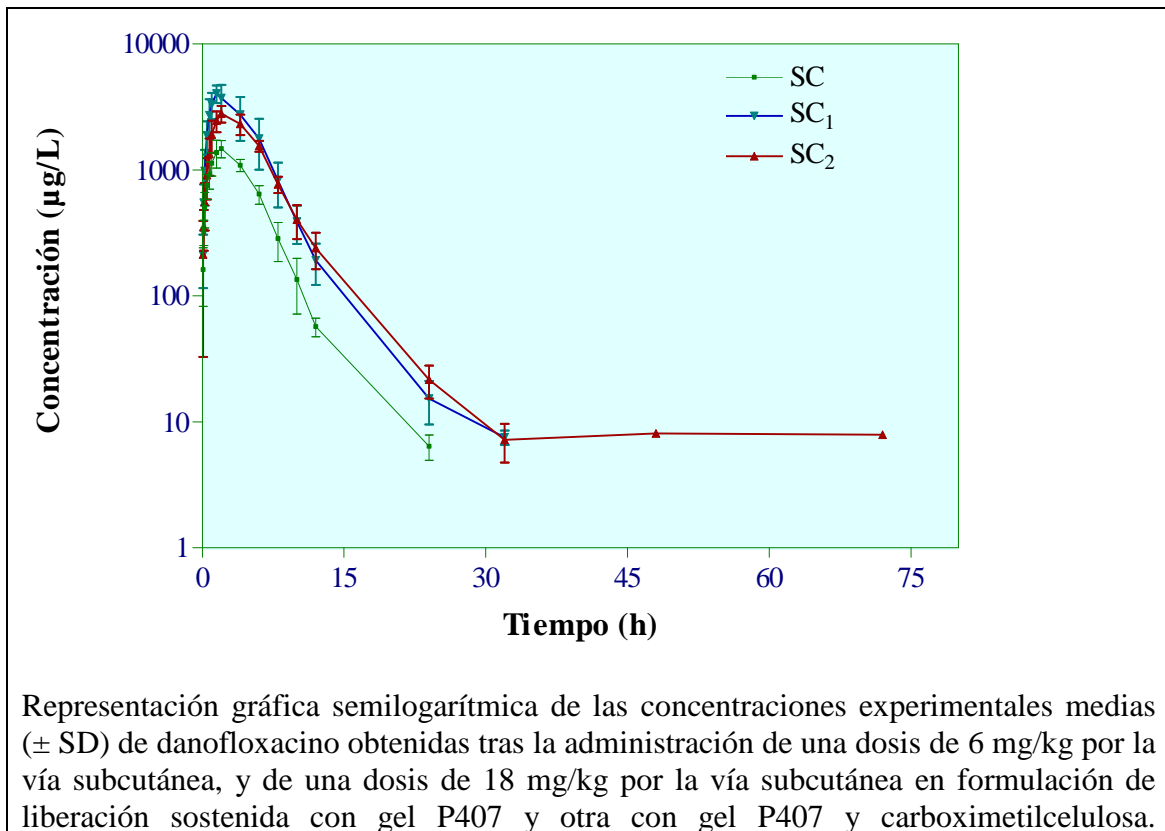


Gráfico 30- CONCENTRACIONES MEDIAS SC, SC-P407 Y SC-P407-CMC



10.3.- ABREVIATURAS

A. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

- **AIC:** Criterio de información de AKAIKE.
- **C.V.:** Coeficiente de variación.
- **D.N.:** Diferencia máxima total entre las frecuencias acumulativas de las distribuciones empírica e hipotética.
- **N.S.:** Nivel de significación.
- **P:** Probabilidad.
- **R:** Coeficiente de correlación (r)
- **R²:** Coeficiente de determinación
- **RSD:** desviación estándar relativa a una serie de repeticiones de concentraciones determinadas.
- **S.D.:** Desviación estándar.
- **S.E.:** Error estándar.
- **t:** t de Student.

B. 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 subcutánea).
- **D:** Dosis.
- **F:** Biodisponibilidad.
- **fu:** Fracción libre de fármaco, no unido a proteínas plasmáticas.
- **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.

- **k_f** : Constante aparente de formación de metabolito ciprofloxacino.
- **λ_1** : Constante híbrida de disposición rápida.
- **λ_2** : Constante híbrida de disposición lenta.
- **MAT**: Tiempo medio de absorción.
- **MR**: Ratio de metabolito (ciprofloxacino).
- **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 subcutánea).
- **$t_{1/2}$** : Tiempo de vida media o vida media del fármaco.
- **$t_{1/2ka}$** : Tiempo de vida media aparente de absorción.
- **$t_{1/2\lambda_2}$** : Tiempo de vida media de la fase disposición lenta.
- **$t_{1/2kf}$** : Tiempo de vida media de formación del metabolito ciprofloxacino.
- **τ** : Intervalo de dosificación.
- **UPP**: Unión a proteínas plasmáticas.
- **V_v** : 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.

C. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS-FARMACODINÁMICOS

- **AUC/CMI**: Relación del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo y la concentración mínima inhibitoria para un microorganismo dado. Cuando no se especifica, se asume que el AUC corresponde a un periodo de 24 horas.
- **$C_{m\acute{a}x}$ /CMI**: Relación entre la concentración plasmática máxima tras la administración de un antimicrobiano y la concentración mínima inhibitoria.
- **CMI**: Concentración mínima inhibitoria.
- **PK-PD**: Farmacocinético-farmacodinámico.

D. OTRAS ABREVIATURAS EMPLEADAS EN EL PRESENTE MANUSCRITO

- **BSAC:** British Society for Antimicrobial Chemoterapy.
- **DACD:** Diarrea asociada a *Clostridium difficile*.
- **EPA:** efecto postantibiótico.
- **FDA:** Food and Drug Administration.
- **Formulación SC1:** solución de polímero P407 al 25%.
- **Formulación SC2:** solución de polímero P407 al 25% + carboximetilcelulosa al 2%.
- **g:** constante gravitatoria (980 cm/s^2).
- **GABA:** receptor del ácido gamma-aminobutírico.
- **ICAAC:** Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy.
- **iv:** vía intravenosa
- **im:** vía intramuscular.
- **INR:** International Normalized Ratio, parámetro establecido por la OMS y el Comité Internacional de Trombosis y Hemostasis, para unificar los valores obtenidos mediante los test de coagulación de la sangre.
- **MMA:** Mastitis Metritis Agalactia.
- **NCCLS:** National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- **NAC:** Neumonía adquirida en la comunidad.
- **PALE:** Postantibiotic leukocyte enhancement.
- **QRDR:** *quinolone resistance-determining regions*, regiones del cromosoma bacteriano determinantes de la resistencia a las quinolonas.
- **rpm:** revoluciones por minuto.
- **sc:** vía subcutánea.
- **vo:** vía oral.