

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

**Influencia de la edad en perfil sérico de marbofloxacina en
llamas juveniles (*Lama Glama*) tras administraciones
parenterales y su repercusión sobre la eficacia terapéutica**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

María Soledad Aguilar Sola

DIRECTORES

José Julio de Lucas
Sonia Rubio Langre
Nicolás Javier Litterio

Madrid, 2018



**UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID**

Facultad de Veterinaria

Departamento de Toxicología y Farmacología

**INFLUENCIA DE LA EDAD EN EL PERFIL SÉRICO DE
MARBOFLOXACINA EN LLAMAS JUVENILES (*Lama
Glama*) TRAS ADMINISTRACIONES PARENTERALES Y
SU REPERCUSIÓN SOBRE LA EFICACIA TERAPÉUTICA**

Dirección: S. Rubio, N.J. Litterio, J.J. de Lucas

María Soledad Aguilar Sola

Madrid, 2015

D. José Julio de Lucas Burneo, con DNI 05379724R, Profesor Contratado Doctor del Departamento de Toxicología y Farmacología, de la Facultad de Veterinaria, de la Universidad Complutense de Madrid (UCM); Dña. Sonia Rubio Langre, con DNI 29761975K Prof. Asociado de Farmacología, de la Facultad de Veterinaria, de la Universidad Alfonso X El Sabio (UAX), y D. Nicolás Javier Litterio, con pasaporte 21943173N Prof. Titular de Farmacología, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Católica de Córdoba (UCC, Argentina)

C E R T I F I C A N

Que la memoria presentada por la Licenciada en Veterinaria Dña. María Soledad Aguilar Sola, con el título “Influencia de la edad en el perfil sérico de marbofloxacina en llamas juveniles (*Lama glama*) tras administraciones parenterales y su repercusión sobre la eficacia terapéutica”, ha sido realizada bajo nuestra dirección en la Cátedra de Farmacología, del Departamento de Toxicología y Farmacología, de la Facultad de Veterinaria de la U.C.M. y en los campos de prácticas de la Facultad de Agronomía y CC Veterinarias de la U.C.C.

Que el estudio ha sido realizado conforme a los principios de la metodología científica y cumple los criterios de calidad para aspirar al Título de Doctor.

Madrid, noviembre de 2015

Fdo. Julio de Lucas Burneo

Fdo. Nicolás Litterio

Fdo. Sonia Rubio Langre

Memoria presentada por Dña. María Soledad Aguilar Sola
para aspirar al título de Doctor

Fdo. María Soledad Aguilar Sola
Madrid, noviembre 2015

ABREVIATURAS	1
I.- RESUMEN	7
I.1.- Resumen en español	9
I.2.- Summary	10
II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	13
II.1.- Producción y sanidad de la llama (<i>Lama glama</i>)	15
II.1.1.- Modalidades de la cría y aprovechamiento de la llama en Argentina.....	15
II.1.2.- Enfermedades de las llamas en Argentina.....	16
II.1.2.1.- Morbilidad y mortalidad en crías de llamas.....	17
II.1.2.2.- Enteritis Neonatales.....	18
II.1.2.3.- Afecciones del tracto respiratorio: Neumonías	18
II.2.- Generalidades sobre quinolonas y fluoroquinolonas	19
II.2.1.- Concepto, historia y origen químico	19
II.2.2.- Evolución histórica y clasificación	20
II.2.3.- Estructura química y su relación con la acción farmacológica.....	21
II.2.3.1.- Sustituciones constantes	22
II.2.3.2.- Sustituciones habituales	22
II.2.3.3.- Sustituciones variables	23
II.2.3.4.- Estructura química de la marbofloxacina	25
II.2.4.- Propiedades físico-químicas	25
II.2.5.- Farmacodinamia	28
II.2.5.1.- Mecanismo de acción	28
II.2.5.2.- Espectro antimicrobiano	30
II.2.5.3.- Efecto post-antibiótico.....	33
II.2.5.3.1.- Efecto post-antibiótico de la marbofloxacina	34
II.2.5.4.- Resistencias bacterianas	35
II.2.5.4.1.- Resistencias bacterianas de la marbofloxacina.....	38
II.2.5.5.- Prevención de resistencias	38
II.2.5.6.- Toxicidad y efectos adversos.....	39
II.2.5.6.1.- Toxicidad y efectos adversos de la marbofloxacina	40
II.2.5.7.- Interacciones farmacológicas	41
II.2.5.7.1.- Interacciones farmacodinámicas	41
II.2.5.7.2.- Interacciones farmacocinéticas	42
II.2.5.8.- Evaluación medioambiental	43
II.2.6.- Farmacocinética.....	43
II.2.6.1.- Biodisponibilidad	43
II.2.6.1.1.- Biodisponibilidad en Camélidos.....	45
II.2.6.1.2.- Biodisponibilidad de la marbofloxacina.....	46
II.2.6.2.- Distribución	47
II.2.6.2.1.- Distribución en Camélidos.....	49

II.2.6.2.2.- Distribución de la marbofloxacin.....	49
II.2.6.3.- Eliminación: metabolismo y excreción	51
II.2.6.3.1.- Eliminación: metabolismo y excreción en Camélidos	52
II.2.6.3.2.- Eliminación: metabolismo y excreción de la marbofloxacin	53
II.2.7.- Influencia de la edad animal en la disposición farmacocinética de los fármacos	56
II.2.8.- Integración farmacocinética-farmacodinámica (PK/PD)	57
II.2.8.1.- Integración farmacocinética-farmacodinámica (PK/PD) de la marbofloxacin.....	59
III.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	63
IV.- MATERIAL Y MÉTODOS	69
IV.1.- Material	71
IV.1.1.- Animales	71
IV.1.2.- Fármacos utilizados	71
IV.1.3.- Material utilizado durante la toma de muestras y su conservación.....	71
IV.1.4.- Material utilizado durante la extracción y cuantificación de las muestras: reactivos	72
IV.1.5.- Instrumentación para la extracción y cuantificación	72
IV.1.6.- Equipo de cromatografía líquida de alta eficacia	72
IV.1.7.- Material utilizado para la obtención de las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC)	73
IV.1.8.- Material diverso	73
IV.1.9.- Instrumentación para el análisis de los datos	74
IV.2.- Métodos	74
IV.2.1.- Acondicionamiento y mantenimiento de los animales	74
IV.2.1.1.- Examen físico general	74
IV.2.1.2.- Analítica sanguínea	74
IV.2.2.- Administración del fármaco y toma de muestras	75
IV.2.2.1.- Administración del fármaco	75
IV.2.2.2.- Obtención de las muestras.....	76
IV.2.3.- Registro de las muestras	76
IV.2.4.- Acondicionamiento de las muestras	76
IV.2.5.- Técnica y metodología extractiva	77
IV.2.5.1.- Metodología extractiva	77
IV.2.6.- Metodología analítica	77
IV.2.6.1.- Detección de fármacos	77
IV.2.6.2.- Preparación de la fase móvil	78
IV.2.6.3.- Condiciones cromatográficas	78
IV.2.6.4.- Validación del método analítico	78
IV.2.6.5.- Linealidad	78
IV.2.6.6.- Precisión y exactitud	79
IV.2.6.7.- Límite de detección	79

IV.2.6.8.- Límite de cuantificación o sensibilidad	80
IV.2.6.9.- Reproducibilidad del método analítico	80
IV.2.6.10.- Recuperación de la técnica extractiva	80
IV.2.7.- Tratamiento cinético	80
IV.2.8.- Cálculo de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)	81
IV.2.8.1.- Toma de muestras.....	81
IV.2.8.2.- Determinación de la concentración inhibitoria mínima (MIC) de marbofloxacina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> procedentes de llamas.....	81
IV.2.8.3.- Prueba de susceptibilidad: método de microdilución en caldo	82
IV.2.8.4.- Lectura de las placas.....	83
IV.2.9.- Tratamiento estadístico	83
IV.2.10.- Cálculo de índices de eficacia	84
V.- RESULTADOS	85
V.1.- Examen clínico y seguimiento del peso de los animales	87
V.2.- Metodología analítica	88
V.2.1.- Condiciones cromatográficas: longitud de onda	88
V.2.2.- Linealidad	88
V.2.3.- Reproducibilidad del método analítico	89
V.2.4.- Recuperación de la técnica extractiva	89
V.2.5.- Rectas de calibración	89
V.2.6.- Límite de cuantificación o sensibilidad.....	91
V.3.- Estudio farmacocinético de la marbofloxacina	92
V.3.1.- Estudio 1: administración IV de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacina en tekes de 3 días de edad	92
V.3.2.- Estudio 2: administración IV de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacina en tekes de 10 días de edad	93
V.3.3.- Estudio 3: administración IV de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacina en tekes de 24 días de edad	95
V.3.4.- Estudio 4: administración IV de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacina en tekes de 50 días de edad	97
V.3.5.- Estudio 5: administración IV de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacina en tekes de 80 días de edad	99
V.3.6.- Estudio 6: administración SC de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacina en tekes de 35 días de edad	103
V.4.- Resultados estadísticos.....	105
V.5.- Integración farmacocinética/farmacodinámica	110
VI.- DISCUSIÓN	113
VI.1.- Discusión del material	115
VI.1.1.- Material biológico	115
VI.1.2.- Fármacos y productos biológicos utilizados, reactivos e instrumentación	116
VI.2.- Discusión del método	116

VI.2.1.- Protocolos de administración del fármaco, obtención y acondicionamiento de las muestras	116
VI.2.2.- Metodología analítica	117
VI.2.3.- Tratamiento farmacocinético	119
VI.2.4.- Administración intravenosa.....	120
VI.2.4.1.- Absorción: influencia del desarrollo en el comportamiento farmacocinético de la marbofloxacina en tekes	120
VI.2.4.2.- Distribución.....	122
VI.2.4.3.- Eliminación	124
VI.2.5.- Administración subcutánea.....	132
VI.2.6.- Índices de eficacia	134
VII.- CONCLUSIONES	139
VIII.- BIBLIOGRAFÍA	143
IX.- ANEXOS	169

ABREVIATURAS

A

ADN: Ácido desoxrrribonucleico

AdSV: Voltamperometría de resolución adsorptiva

ATC: Química Anatómica Terapéutica

ATCC: Cepas control

ATC-vet: Química Anatómica Terapéutica Veterinaria

ATM: Antimicrobiano

AUC: Área bajo la curva de concentraciones plasmáticas en función del tiempo, desde el tiempo 0 hasta el tiempo de la última concentración cuantificada

AUC_∞: Área bajo la curva de concentraciones plasmáticas, en función del tiempo desde el tiempo 0 hasta el infinito

C

C 8: Carbono 8

C: Carbono

C₀: Concentración plasmática inicial

C10: Carbono 10

C3: Carbono 3

C4: Carbono 4

C-H: Carbono unido a un hidrógeno

CHRO: Medio Magar Staph aureus

Cl: Cloro

Cl: Aclaramiento Plasmático

C_{máx}: Concentración plasmática máxima

CMH: Medio de cultivo Mueller-Hinton

CPK: Enzima creatina fosfoquinasa

CSA: Camélidos sudamericanos

D

DE: Desviación estándar

DPP: Polarografía pulsante diferencial

E

E: Capacidad de extracción

EMB: Medio eosina azul de metileno o de levine

F

F*: Flúor

F: Biodisponibilidad

G

G-: Bacteria Gram negativa

G+: Bacteria Gram positiva

H

H: Hidrógeno

H₂Q⁺: Cation

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución

HQ[±]: Zwitterión

HQ[°]: Especie neutra

I

Igs: Inmunoglobulinas

IM: Administración Intramuscular

K

K₁ y K₂: Constantes de disociación

K₁₀: constante de eliminación

K₁₂: constante de transferencia del compartimiento central al periférico

K₂₁: constante de transferencia del compartimiento periférico al central

K_{ow}: Coeficiente de reparto octanol/agua

L

LD: Límite de detección

M

MIC: Concentración Mínima Inhibitoria

MPC: Concentración Preventiva de Mutantes

MRT: Tiempo Medio de Residencia

MSA: Medio Manitol – Salado- Agar o Chapman

MSW: Ventana de Selección de Mutantes

N

N: Nitrógeno

O

O: Oxígeno

OMS: Organización Mundial de la Salud

P

PAE: Efecto postantibiótico

PD: Parámetros farmacodinámicos

PK: Parámetros farmacocinéticos

pKa: Constante de disociación ácida

Q

Q: Flujo cardíaco

Q-: Anión

R

R 1: Radical posición 1

R 5: Radical posición 5

R 7: Radical posición 7

S

S: Azufre

SC: Administración Subcutánea

S₀: Solubilidad intrínseca

SSOP: Oscilopolarografía

SSP: Polarografía clásica de barrido simple

SWV: Voltamperometría de onda cuadrada

T

t_{1/2λ}: Semivida de eliminación

T_{máx}: Tiempo máximo

U

UFC: Unidad Formadora de Colonias

V

V_d: Volumen de distribución

V_{dss}: Volumen de distribución en estado estacionario

V_z: Volumen de distribución en pseudoequilibrio

X

X 8: Carbono X8

I.- RESUMEN

I.1.- RESUMEN EN ESPAÑOL

La llama (*Lama glama*) es una especie perteneciente al grupo de los camélidos sudamericanos (CSA). Estos animales desempeñan un rol importante para las poblaciones alto-andinas, que les proporcionan alimento (carne), vestimenta (lana y cuero) y son utilizadas como transporte de carga, aprovechando al mismo tiempo su materia fecal como fertilizante y combustible. En general la producción de llamas no posee el nivel tecnológico de otras producciones animales.

Al ser una actividad de subsistencia, no cuenta con la tecnología suficiente para hacer frente a los procesos morbosos que afectan a las crías, lo que produce grandes pérdidas de las mismas, por mortalidad temprana. Las enfermedades infecciosas más frecuentes son las enterotoxemias, las diarreas neonatales y los procesos respiratorios agudos. La mortalidad en animales jóvenes es muy importante y ha sido considerada en varios estudios como causa de disminución importante de la población. De hecho, en el período predestete (6 meses de edad) ha sido determinada en un 2,1% en Estados Unidos, entre 2,7 y 3,3 % en el Reino Unido y del 12 % en la zona del altiplano.

La administración de antibióticos de amplio espectro resolvería, en gran medida, los problemas anteriormente mencionados en este tipo de explotaciones ganaderas por lo que cabe la posibilidad, de hacer una interpretación errónea del beneficio social que suponen las fluoroquinolonas y caer en un uso abusivo de las mismas. Las fluoroquinolonas poseen un espectro bactericida que incluye a bacterias Gram positivas y Gram negativas, Clamidias y Micoplasmas. Dentro de este grupo, la marbofloxacina es un antimicrobiano de uso exclusivo veterinario, cuyas características farmacocinéticas lo ubican como un fármaco con buena biodisponibilidad, una amplia distribución tisular y un prolongado tiempo de permanencia en el organismo, por lo que se ha indicado su uso para un elevado número de especies. Para minimizar la emergencia de resistencias, derivada de la presión terapéutica, debe reservarse siempre la utilización de marbofloxacina como terapia de segunda elección, tal y como se recomienda en las normativas de uso racional y uso prudente de antibióticos en medicina veterinaria.

El objetivo de este trabajo fue describir el comportamiento farmacocinético de marbofloxacina, tras la administración de dosis únicas de 5 mg/kg de peso corporal, por vía intravenosa en tekes en periodo de crecimiento, a los 3, 10, 24, 50 y 80 días de edad; y por vía subcutánea en tekes a los 35 días de edad. Así como determinar las MIC frente a cepas de microorganismos aislados de afecciones cutáneas y digestivas, presentes en animales adultos, para calcular los índices de eficacia PK/PD.

El estudio se desarrolló sobre 6 llamas, nacidas en el campo experimental de la UCC. Los tekes recibieron la administración de una formulación comercial de marbofloxacina (Marbocyl® 10%, solución inyectable). Las muestras fueron analizadas mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). Los resultados obtenidos se sometieron a análisis mediante el programa informático PCnonlin ajustándose a un modelo

bicompartmental de primer orden con ponderación ($1/y^2$). Para facilitar la posterior comparación de los datos farmacocinéticos obtenidos tras la administración SC también se ajustaron a un modelo no compartimental.

El análisis farmacocinético de la administración intravenosa a las edades de 3, 10, 24, 50 y 80 días no mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) para la C_0 ($3,00 \pm 0,55$; $3,07 \pm 0,84$; $2,75 \pm 1,02$; $4,06 \pm 1,18$; $3,80 \pm 1,32$ $\mu\text{g/ml}$ respectivamente), ni para el Vd_{ss} ($3,08 \pm 0,64$; $3,41 \pm$; $3,68 \pm 1,03$; $2,95 \pm 0,52$; $2,83 \pm 0,35$ L/kg respectivamente). Estos valores muestran una amplia distribución.

Los parámetros que definen la eliminación $t_{1/2\lambda}$ ($17,84 \pm 3,69$; $15,90 \pm 3,03$; $12,46 \pm 2,62$; $8,46 \pm 3,86$; $7,86 \pm 3,95$ h), Cl ($0,14 \pm 0,03$; $0,18 \pm 0,03$; $0,28 \pm 0,09$; $0,32 \pm 0,12$; $0,40 \pm 0,22$ L/kg·h) y MRT ($17,06 \pm 2,92$; $15,60 \pm 2,16$; $11,42 \pm 2,15$; $8,14 \pm 3,68$; $7,33 \pm 2,59$ h), si presentan diferencias significativas entre las diferentes edades, siendo los 24 días el momento que marca un cambio en el comportamiento de estos parámetros. Estos valores indican una alta semivida y un lento aclaramiento plasmático aunque con un incremento constante a medida que el teke crece, situación que se debe a la maduración de los procesos de eliminación y al cambio de la alimentación que modifica el pH urinario, ocasionando una reducción en la reabsorción tubular pasiva y favoreciendo así la eliminación de la molécula.

La administración SC no mostró toxicidad tisular apreciable en el punto de inyección. Se registró una $C_{m\acute{a}x}$ de $1,73 \pm 0,37$ $\mu\text{g/ml}$ y un $T_{m\acute{a}x}$ de $0,92 \pm 0,34$ h lo que muestra una rápida absorción. El Vd_{ss} fue $9,14 \pm 1,18$ L/kg; la $t_{1/2\lambda}$ $6,41 \pm 1,58$ h, el Cl $0,32 \pm 0,07$ L/kg·h y el MRT $7,14 \pm 0,42$ h, observándose, por tanto, una amplia distribución y una larga permanencia en el organismo.

Para el estudio de las MIC y el cálculo de los índices de eficacia se utilizaron bacterias procedentes de llamas enfermas, en concreto, cepas de *E. Coli* y *S. aureus*, obteniendo unos valores de MIC_{90} de 0,03 y 0,25 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente.

La integración de los índices PK/PD obtenidos, AUC/MIC_{90} oscila para *S. aureus* entre 148 ± 35 para animales de 3 días y 65 ± 24 para los de 80 días; para *E. Coli* entre 1229 ± 291 (3 días) y 499 ± 203 (80 días). El índice $C_{m\acute{a}x}/MIC_{90}$ oscila entre 12 ± 2 (3 días) y 15 ± 5 (80 días) para *S. aureus* y entre 100 ± 18 (3 días) y 127 ± 44 (80 días) para *E. Coli*, demostrando que, la dosis empleada de 5 mg/kg, es una buena alternativa para el control de infecciones en las que se ven implicadas estas bacterias, especialmente en los animales más jóvenes.

I.2.- SUMMARY

The llama (*Lama glama*), is a species belonging to the group of South American camelids (CSA). These animals play an important role for communities of people living in the High Andes, providing food (meat), clothing (wool and leather) and are used as pack animal,

while leveraging their fecal matter as fertilizer and fuel. Overall production llamas do not possess the technological level of other livestock sectors.

As a subsistence activity, does not have the technology to fight the disease processes affecting the young, causing great loss of the same by early mortality. The most common infectious diseases are enterotoxemias, neonatal diarrhea and acute respiratory processes. The mortality rate in young animals is very important and has been considered in several studies as the main cause of population decline. In fact, in the pre-weaning period (six months old) it has been determined at 2.1% in the United States, between 2.7 and 3.3% in the UK and 12% in the highlands.

The application of broad-spectrum antibiotics would solve, largely, the problems mentioned in such farms so the possibility of making an erroneous interpretation of social benefit involving fluoroquinolones and fall into an abuse of the same. Fluoroquinolones have a bactericidal spectrum including Gram positive and Gram negative, chlamydia and mycoplasma. Within this group, marbofloxacin is an antimicrobial veterinarian exclusive use, pharmacokinetic characteristics which place it as a drug with good bioavailability, a wide tissue distribution and extended residence time in the organism, so its use is indicated for a large number of species. To minimize the emergence of resistance, derived from the therapeutic pressure, always using Marbofloxacin reserved as second-line therapy, as recommended in the policy of rational and prudent use of antibiotics in veterinary medicine.

The aim of this work was to observe the pharmacokinetic behavior in young llamas (crias) growing at 3, 10, 24, 50 and 80 days-old, and the same subcutaneous (SC) dose at 35 days-old and secondly to determine the minimum inhibitory concentrations (MIC) of the antimicrobial against isolates from skin and digestive disorders, in adult animals, to estimate the efficacy indicators pharmacokinetic / pharmacodynamic (PK / PD).

Six animals born in the experimental field of UCC were used. Animals received the administration of a commercial formulation of marbofloxacin (Marbocyl® 10% solution for injection). Serum samples were analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC). The results were analyzed using the PC-nonlin software using a two-compartment model with first-order weighting ($1/y^2$). For subsequent comparison of the pharmacokinetic data obtained after the SC administration to a non-compartmental model they were also adjusted.

Pharmacokinetic analysis of intravenous administration to the ages of 3, 10, 24, 50 and 80 days showed no significant differences ($p < 0,05$) for C_0 ($3,00 \pm 0,55$; $3,07 \pm 0,84$; $2,75 \pm 1,02$; $4,06 \pm 1,18$; $3,80 \pm 1,32$ $\mu\text{g/ml}$ respectivamente), or for the $V_{d_{ss}}$ ($3,08 \pm 0,64$; $3,41 \pm$; $3,68 \pm 1,03$; $2,95 \pm 0,52$; $2,83 \pm 0,35$ L/kg respectivamente). These values show a wide distribution.

The parameters defining the elimination $t_{1/2\lambda}$ (17.84 ± 3.69 ; $15, 90 \pm 3.03$, 12.46 ± 2.62 , 8.46 ± 3.86 , 7.86 ± 3.95 h), CI (0.14 ± 0.03 , 0.18 ± 0.03 , $0, 28 \pm 0.09$, 0.32 ± 0.12 , 0.40 ± 0.22 L / kg·h) and MRT (17.06 ± 2.92 , 15.60 ± 2.16 , 11.42 ± 2.15 , 8.14 ± 3.68 , 7.33 ± 2.59

Resumen

h), significant differences between different ages, 24 days being the moment that marks a change in the behavior of these parameters. These values indicate a high plasma half-life and a cute but with a steady increase clearance as the animal grows, situation due to the maturing process of elimination and change of feeding modifying urine pH, causing a reduction in passive tubular reabsorption and favoring the elimination of the molecule.

Subcutaneous administration showed no irritation at the injection site. It was recorded $C_{m\acute{a}x}$ of 1.73 ± 0.37 mg / ml and $T_{m\acute{a}x}$ 0.92 ± 0.34 h which shows rapid absorption. The Vd_{ss} was $9,14 \pm 1,18$ L/kg; $t_{1/2\lambda}$ $6,41 \pm 1,58$ h, Cl $0,32 \pm 0,07$ L/kg·h and MRT $7,14 \pm 0,42$ h, showing therefore a wide distribution and long residence in the body.

To study the MIC and calculating efficiency indices were used bacteria from diseased flames, specific, strains of *E. coli* and *S. aureus*, obtaining values of MIC₉₀ of 0.03 and 0.25 mg / ml respectively.

The integration of the PK / PD indices obtained, AUC/MIC_{90} oscillates for *S. aureus* between 148 ± 35 for animal 3 days and 65 ± 24 for 80 days; for *E. Coli* between 1229 ± 291 (3 days) and 499 ± 203 (80 days). The index $C_{m\acute{a}x}/MIC_{90}$ oscillates between 12 ± 2 (3 days) and 15 ± 5 (80 days) for *S. aureus* and between 100 ± 18 (3 days) and 127 ± 44 (80 days) for *E. Coli*, demonstrating that dose used (5mg/kg) is a good alternative for the control of infections caused by these bacteria, especially in younger animals.

II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II.1.- PRODUCCIÓN Y SANIDAD DE LA LLAMA (*Lama glama*)

II.1.1.- Modalidades de la cría y aprovechamiento de la llama en Argentina

La llama (*Lama glama*) es un camélido habitante de las praderas y estepas andinas, cuyos pastos naturales le sirven de alimento, por lo que su crianza no es onerosa, sino que, por el contrario, constituye una fuente económica relevante para las poblaciones andinas, a quienes provee de fibra, cuero, carne y combustible; se la utiliza también como animal de carga para el transporte de mercaderías entre las poblaciones de la región puneña.

Si bien, históricamente, la utilización de los productos que brindan las llamas ha sido intensa en las comunidades altoandinas, en los últimos años se están realizando esfuerzos destinados a ampliar el área de producción así como la implementación de mejoras en las tecnologías de procesamiento, con el fin de poder introducir en los centros urbanos un producto nuevo: la carne de llama. Un alimento sumamente beneficioso para la salud humana, pues se caracteriza por su bajo porcentaje de colesterol y de grasa, unido a un elevado contenido de proteínas, factores ambos que se relacionan con la mejora de la dieta alimentaria de los seres humanos.

En cuanto a la producción, los beneficios que reporta la crianza de llamas son considerables, pues permite aprovechar los suelos pobres, con pastos escasos y duros, con amplitudes térmicas considerables. A ello se le suman dos factores: el coste relativamente bajo de producción, que da lugar a su puesta en práctica por parte de los pobladores de zonas con más carencias, sin medios para afrontar gastos elevados de producción, y una mayor protección y cuidado de los suelos, ya que la llama tiene bajo peso, alrededor de 150 kg, y una pisada característica que no maltrata el pasto ni causa erosión debido a su almohadilla plantar, que suplanta a las pezuñas propias de otros ungulados (Fernández-Baca, S., 2005).

Lo expuesto hasta ahora permite destacar la relevancia que adquiere el fomento de la cría de llamas, pues beneficia a criadores y consumidores, a la vez que se coordina con el interés ecologista por la conservación de los suelos y la vegetación natural.

Habida cuenta, entonces, de que la producción de llamas se presenta como una alternativa promisorio cuyo futuro se está convirtiendo en una realidad en distintos lugares del mundo (por ejemplo, Australia), la Argentina se encuentra en una situación de privilegio. La cría de llamas y la utilización de los productos que brinda están establecidas desde muy antiguo en las provincias del norte del país. Por tanto, la conversión de actividad autosustentable, realizada con visión artesanal por los pobladores altoandinos, a producción con carácter comercial, con miras a incursionar en el mercado de consumo, nacional y de exportación, sólo requiere la introducción de nuevas tecnologías y la educación de los criadores, actuales y potenciales que deberán aplicar recursos tendientes a incrementar la población de estos camélidos (Vilá, B., 2012).

Siguiendo esta dirección, una de las primeras estrategias a realizar consiste en la reducción de la mortalidad y morbilidad de las crías (tekes), unida al aumento de la tasa de natalidad, ya que hasta ahora, bien por falta de cuidado reproductivo, bien por

empobrecimiento alimentario causado por el sobrepastoreo o por mortalidad embrionaria, no ha tenido lugar.

Por tanto los objetivos primordiales en el ámbito de la producción llamífera son:

- El cuidado de las llamas adultas mediante alimentación adecuada, que provea todos los nutrientes necesarios para que las gestaciones lleguen a buen término, a la vez que se procura el buen estado de salud de todos los adultos.
- La vigilancia de las crías desde su nacimiento hasta el destete, a fin de evitar la morbilidad y la mortalidad de las mismas.

Los dos objetivos adquieren relevancia si se piensa que la natalidad en esta especie es escasa, dado el extenso período de gestación (350 días) con sólo una cría por parto (Fowler, M., 1989).

En tal sentido, una de las medidas a tomar es el control de las enfermedades y para ello, es fundamental el control de la condición de salud maternal, incluyendo la desparasitación y vacunación de las madres (Pinto Jiménez, C., 2010). Hay que tener en cuenta que las concentraciones de inmunoglobulinas (Igs) calostrales en la mayoría de las especies productivas determinan los niveles de Igs en sus crías, y los fallos en la transferencia pasiva ocasionan susceptibilidad a infecciones en el recién nacido (Flodr y col., 2012). Por ello, es necesario proveer al neonato de calostro de buena calidad, que le aporte inmunoglobulinas suficientes para impedir la aparición de patologías (Flodr y col., 2012).

Finalmente, cabe agregar que la acción inmunológica del calostro materno se extiende durante el período que media entre el nacimiento y las primeras semanas de vida, momento en que el neonato debe estar en condiciones de adaptarse a las circunstancias ambientales; ello puede incidir en la aparición de enfermedades asociadas a la edad temprana.

II.1.2.- Enfermedades de las llamas en Argentina

Las enfermedades infecciosas causan elevadas tasas de morbilidad y mortalidad en crías de llamas en todos los lugares en que se encuentran los camélidos sudamericanos (CSA) (Pinto Jiménez y col., 2010; Ramírez, A., 1991; Vázquez, D., 2010).

Tradicionalmente, las llamas en la Argentina se distribuían en las zonas del Altiplano argentino y sus alrededores, en donde la semiaridez y aridez actúan como limitantes naturales para el desarrollo de algunas enfermedades infecciosas (Frank, E., 2005). Pero actualmente, las llamas se encuentran también en diversas regiones del país, de condiciones climáticas menos extremas, para formar parte de rebaños de campo, zoológicos, parques y como mascotas, lo que permite la aparición de signos y patologías de enfermedades propias de regiones más húmedas; así, se modifica la prevalencia e incidencia de las enfermedades que antes se presentaban (Llorente y col., 2002).

Es de destacar que en nuestro país hay poca información de la prevalencia y presentación de enfermedades en llamas y todos los trabajos se han realizado en animales adultos. Es la provincia de Jujuy, la que más ha estudiado sobre seroprevalencia de enfermedades infecciosas en esta especie (Marín y col., 2007) y prevalencia sanitaria en llamas (Marín, R. y col., 2009; Cafrune y col., 1996), donde se muestrearon animales mayores de 3 años de edad, aunque también se destacan trabajos en Buenos Aires, Córdoba y Catamarca (Puntel y col., 1999; Llorente y col., 2002).

Tabla II.1.- Prevalencia y presentación de enfermedades en llamas en distintas provincias de Argentina

	Patología	Provincia	Positivos (%)	Autor
Víricas	<i>Diarrea Viral Bovina (BVDV)</i>	Jujuy, Buenos Aires, Córdoba	2,05	Puntel y col., 1999
		Jujuy	0,23	Marín, R. y col., 2009
	<i>Parainfluenza A 3 (PI3)</i>	Jujuy	76,9	Marín, R. y col., 2009
	<i>Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR)</i>	Jujuy	0,23	Marín, R. y col., 2009
	<i>Aftosa</i>	Jujuy	0	Marín, R. y col., 2009; Puntel y col., 1999
	<i>Rotavirus Bovino (BRV)</i>	Jujuy	100	Marín, R. y col., 2009
	<i>Herpesvirus Bovino tipo 1 (BHV-1)</i>	Jujuy, Buenos Aires, Córdoba	87,69	Puntel y col., 1999
	<i>Adenovirus Bovino (BADV III)</i>		0,77	
<i>Leucemia Bovina (BEV)</i>	5,13			
			4,10	
Bacterianas	<i>Leptospira interrogans</i>	Jujuy	31,6	Marín, R. y col., 2009
		Jujuy	75 96,2	Llorente y col., 2002
		Catamarca	53,3	
		Buenos Aires	75	
	<i>Brucella abortus, mellitensi y ovis</i>	Jujuy	0	Marín, R. y col., 2007
	<i>Paratuberculosis</i>	Jujuy	1	Marín, R. y col., 2007
	<i>Fasciola hepática</i>	Jujuy	80	Cafrune y col., 1996
21,6			Marín, R. y col., 2009	
Parasitarias	<i>Toxoplasmosis</i>	Jujuy	30	Marín, R. y col., 2009
	<i>Neosporosis</i>		4,6	
	<i>Sarcocistosis</i>		96	
	<i>Lamanema</i>		18,2	
	<i>Trichuris</i>		70,5	
	<i>Capillaria</i>		10,2	
	<i>Nematodirus sp</i>		1,1	
	<i>Strongiloides</i>		3,4	
	<i>Céstodes</i>		17	
	<i>Eimeria sp</i>		64,8	

II.1.2.1.- Morbilidad y mortalidad en crías de llamas

Hay pocos estudios de prevalencia e incidencia de agentes infecciosos que causen morbilidad y mortalidad en los tekes de Argentina, pero sí se cuenta con varios trabajos realizados en países limítrofes, así como en los Estados Unidos y en el Reino Unido, sobre las crías de alpacas y llamas (Pinto Jiménez y col., 2010).

Dentro de las patologías por causas infecciosas en neonatos de CSA, se describen principalmente, las afecciones en dos sistemas orgánicos: aparato digestivo (con cuadros de diarreas y septicemias) y aparato respiratorio (con neumonías y muertes súbitas) (Vázquez, M.D.C., 2010).

II.1.2.2.- Enteritis Neonatales

Las afecciones entéricas neonatales pueden ser causadas por diversos agentes infecciosos, bacterianos, víricos y parasitarios:

- **Enterotoxemia:**

Enfermedad causada por *Clostridium perfringens*. Algunos autores (Ramírez, A., 1991) indican que afecta a animales de 15 a 21 días, aunque también puede presentarse en el período extendido entre 3 y 80 días de edad (Vázquez, M.D.C., 2010). Esta situación se ve favorecida por dos cuestiones: una es por manejo, ya que muchas veces se hace coincidir la época de pariciones con la de mayor disponibilidad de forraje que, en ocasiones, se acompaña de mayor presentación de lluvias; el otro factor es la tasa de anticuerpos, que presentan su máxima absorción a las 24 h post-parto, disminuyendo posteriormente hasta alcanzar su concentración más baja hacia la segunda semana de vida, e ir en aumento debido a la producción de anticuerpos del sistema inmune de la cría (Ramírez, A., 1991). Además, los individuos en mejores condiciones de carnes están más predispuestos a presentar la enfermedad debido a la mayor actividad digestiva, lo que lleva a modificaciones en la flora bacteriana que generan el ambiente necesario para la proliferación de Clostridios (Ramírez, A., 1991).

- **Diarreas neonatales**

El agente principal que causa esta patología, colibacilosis, es *Escherichia coli*. Según Pinto Jiménez, C.E. (2010), la enfermedad se presenta en alpacas de cuatro y cinco semanas de edad, mientras que Whitehead, C.E. (2009), en los Estados Unidos, ubica estas diarreas en alpacas y llamas jóvenes, menores de siete días de edad.

Otros agentes involucrados son bacterias como *Salmonella spp* y *Yersinia*, virus como Rotavirus y Coronavirus y parásitos como *Eimeria spp*, *Giardia spp* y *Cryptosporidium spp*, si bien, habitualmente, su presencia en llamas deriva del deterioro de la salud animal.

II.1.2.3.- Afecciones del tracto respiratorio: Neumonías

En este ámbito de patologías destacan las neumonías agudas (y septicemias derivadas), responsables de la muerte de las crías en porcentajes que se extienden entre 2 y 27 % del total, en alpacas y llamas (Ramírez, A., 1991).

En cuanto a factor de riesgo, se considera como determinante la disminución de las defensas. Éstas pueden verse afectadas por diversas causas, como el destete en época de inadecuadas condiciones ambientales (por ejemplo lluvias continuas), infecciones bacterianas (Ramírez, A., 1991) y/o infección por *Rotavirus*, y por último, procesos de carácter hereditario cuya causa aún es desconocida (Hutchison y col., 1992).

Según Hutchison y col. (1992), este último factor se relacionaría, según los investigadores, con un grave síndrome de inmunodeficiencia que afecta sólo a llamas jóvenes, con una edad media de inicio de aproximadamente un año (intervalo entre los 2 y 30 meses).

Por su parte, Vázquez, M.D.C. (2010), hace referencia a *Mannheimia haemolytica* como principal agente etiológico de la pasteurelisis neumónica. Su acceso al pulmón se vería facilitado por la acción de infecciones virales, estrés y condiciones ambientales, que determinan la disminución de las defensas del huésped. En este sentido, Pinto Jiménez y col. (2010) aseguran que en el altiplano andino es frecuente la aparición de brotes neumónicos en los meses de setiembre y octubre, coincidiendo con la separación de animales jóvenes de sus madres (destete) y el inicio de la esquila de algunos animales jóvenes.

Podemos, por tanto, precisar que los tekes, entre el nacimiento y los ochenta días de edad, son susceptibles de ser atacados por diversas bacterias que pueden provocar enfermedades más o menos graves, según su estado inmunológico, las condiciones ambientales y la patogenicidad del agente causal. Varios de estos cuadros sintomáticos finalizan con la muerte del animal afectado, siendo por esto importante contar con recursos que sirvan para estimular el sistema inmune, para mejorar las condiciones ambientales o para disminuir o anular la patogenicidad del microorganismo invasor.

II.2.- GENERALIDADES SOBRE QUINOLONAS Y FLUOROQUINOLONAS

II.2.1.- Concepto, historia y origen químico

Las quinolonas han sido definidas como antimicrobianos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos al interrumpir los procesos de replicación, transcripción, reparación, recombinación y transposición del ácido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano, al evitar el resellado de cortes de ADN cromosómico, con lo que se impide la continuidad y efectividad vital de las bacterias (Drlica y Zhao, 1997).

Son sustancias sintéticas que se descubrieron al intentar obtener un análogo químico de un compuesto natural, la quinina. Si buceamos en los orígenes de la ciencia, entre medicina mágica y chamanes, precursores de este principio eran conocidos por los indígenas americanos, quienes usaban la corteza del árbol que denominaban “Palo de las calenturas, Cascarillas o Quina” (*Cinchona officinalis*) (Estrella, E., 1992). Es en el siglo XIX cuando se extraen varios alcaloides, entre ellos la quinina, utilizada como antipirético, antiséptico y efectiva contra la malaria (Sastoque, E., 2011). Como principio activo, la quinina fue aislada en 1820 por J.B. Caventou y J. Pelletier (Amurrio, D., 2011).

Con el surgimiento de la industria química orgánica se obtuvieron varios derivados sintéticos, entre ellos la cloroquina, y de ésta se sintetizó el ácido nalidíxico (Pallo-Zimmerman, L., 2010). Las acciones tenían como objetivo obtener un antimalárico eficaz. Este ácido fue sintetizado por Lescher en 1962, convertido, cinco años después, en la primera quinolona sintética de uso clínico como antiséptico urinario.

Hacia 1970 se reemplaza el ácido nalidíxico por el ácido oxolínico, por ser más activo; una década más tarde se logran las quinolonas fluoradas, como la norfloxacin y la ciprofloxacina, muy eficaces en la clínica y de las que se obtuvieron muchos derivados (Drlica y Zhao, 1997).

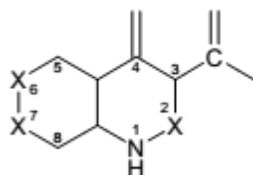


Figura II.1.- Estructura básica de las quinolonas (Gutierrez-Zufiaurre, N., (2004)

II.2.2.- Evolución histórica y clasificación

Gracias a la facilidad con que se puede modificar su estructura química, las quinolonas han ido evolucionando hacia una mayor actividad frente a diversas especies de microorganismos bacterianos, acompañada de reducida toxicidad selectiva. Así, se han desarrollado cuatro generaciones de quinolonas (Fitton, A., 1992).

Tabla II.2.- Clasificación de las quinolonas según Fitton, A., (1992)

Generación	Quinolona
Primera generación	Ácido nalidíxico Enoxacina Tosufloxacino Cinoxacina Ác. Piromídico Ác. Pipemidínico Ác. Oxolínico Acrosoxacino Droxacino Flumequina
Segunda generación (Fluoroquinolonas)	Norfloxacina Enfloxacin Ciprofloxacina Enoxacina Ofloxacina Marbofloxacina Amifloxacina Sarafloxacina Perfloxacina Irloxacina o pifloxacina Levofloxacina Difloxacino Lomefloxacina Fleroxacino Temafloxacino
Tercera Generación	Grepafloxacina Gatifloxacino Esparfloxacina Tosufloxacina
Cuarta generación	Clinafloxacino Moxifloxacino

Otros autores las clasifican según el espectro bacteriano (Rothlin, R. 1999); la estructura química de las moléculas y núcleo básico (Bryskier y Chantot, 1995); uso en medicina humana o veterinaria; uso en infecciones en tracto urinario, en infecciones osteoarticulares, digestivas, de tejidos blandos, respiratorias e infecciones de transmisión sexual (Alós, J., 2009). En la actualidad la OMS ha sistematizado la clasificación de productos de uso humano asignando códigos según un sistema denominado ATC (Anatomical Therapeutic Chemical) y de igual forma, para los productos de uso veterinario, ATC-vet.

En la evolución de las quinolonas se ha producido la ampliación del espectro de acción antimicrobiana, la expansión de su actividad farmacocinética, y la disminución de la toxicidad, unido a una buena absorción oral. Esta evolución, unida a un mayor caudal de conocimientos sobre estos antibióticos, ha provocado la reclasificaciones de las moléculas.

- ❖ La marbofloxacin fue sintetizada por Aoki y col. en el año 1986, y se introdujo en el mercado, para uso exclusivo en veterinaria, en el año 1995. Las primeras clasificaciones de las quinolonas la ubicaban como un agente 2ª generación (Fitton, A., 1992), pero luego fue reclasificada como una quinolona de 3ª generación (Meunier y col. 2004; Ismail y El-Kattan, 2007; Schneider y col., 2014). Para la OMS, en el registro ATC-vet, posee el código QJ01MA93 que lo identifica como principio activo de uso veterinario (Q), antiinfeccioso de uso sistémico (J), antibacteriano para uso sistémico (01), antibacteriano quinolona y quinoxalina (M), fluoroquinolona (A), marbofloxacin (93) (WHO, C.C., 2015).

II.2.3.- Estructura química y su relación con la acción farmacológica

En la Figura II.2 se muestra la relación entre los diferentes radicales y las propiedades que se modifican al sustituirlos por otros diferentes:

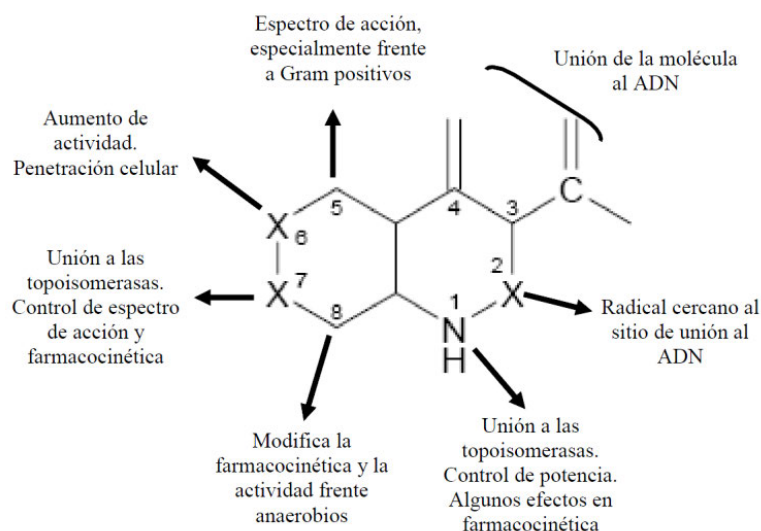


Figura II.2.- Relación estructura química y actividad de la molécula de quinolona (Andersson y MacGowan, 2003)

Las quinolonas son antimicrobianos formados por un anillo heteroaromático biciclo que combina el núcleo β -piridona, ácido carboxílico y un anillo aromático (naftiridina, quinolina, cinolina o piridopirimidina); son moléculas de gran variabilidad química, que permiten sustituciones en los diferentes carbonos, lo que les otorga actividad antimicrobiana, propiedades farmacocinéticas, toxicidad e interacciones con otros fármacos (específicas a cada una de ellas), pero manteniendo el mismo mecanismo de acción. Según Gutierrez-Zufiaurre, N. (2004), esas sustituciones se clasifican en constantes, habituales y variables, y, de esta manera, se definen cuatro grupos, de los cuales derivan todas las quinolonas.

Los grupos son:

- 4-oxo-naftiridinas o 4 naftiridonas
- 4-oxo-quinolinas o 4 quinolonas
- 4-oxo-cinolinas o 4 cinolonas
- 4-oxo-piridopirimidinas o 4 pirimidonas

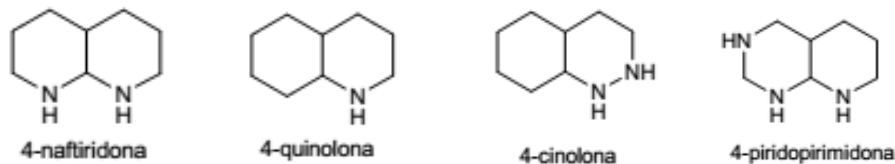


Figura II.3.- Grupos químicos de los que derivan las quinolonas

II.2.3.1.- Sustituciones constantes: se denominan así a las sustituciones que definen al grupo de las quinolonas.

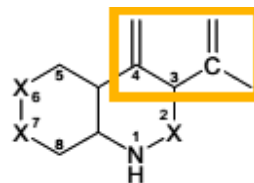


Figura II.4.- Sustituciones constantes

Posiciones 3 y 4: es fundamental que aquí exista un grupo carboxilo en carbono 3 (C3) y un oxígeno en carbono 4 (C4), pues éstos le permiten a la molécula ser transportada al interior de la bacteria y su unión a las topoisomerasas.

II.2.3.2.- Sustituciones habituales: son aquellas que sólo permiten escasas opciones de cambio, siendo éstas posibles con un nitrógeno (N) o un carbono (C) unido a un átomo o un radical pequeño.

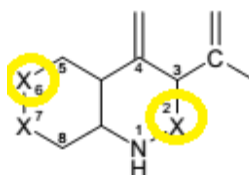


Figura II.5.- Sustituciones habituales

En posición 2: deben ser radicales pequeños para no interferir en el mecanismo de acción; el grupo de las 4-cinolininas posee aquí un N; en otros casos, se ha probado un carbono unido a un hidrógeno (C-H) o un átomo de azufre (S), pero no se han desarrollado por su menor actividad bacteriana.

En posición 6: puede haber un N, un C, un H o un grupo amino, y de ello dependen las distintas posibilidades de sustitución. Si hay un N no admite sustituciones, como sucede en el grupo de las piridopirimidinas (ácido piromídico y el ácido pipemidínico), pertenecientes a la primera generación. Si hay un C puede unirse un radical pequeño, como flúor (F^{*}). Esto originó las fluoroquinolonas o las quinolonas de segunda generación, los derivados más eficaces del grupo por su actividad contra la topoisomerasa IV; y amplía el espectro de acción sobre bacterias G⁺. Si hay un H, son las denominadas desfluoroquinolonas, como el garenoxacino. En general, son menos activas frente a G⁻ que las fluoroquinolonas, pero más activas frente a G⁺.

Puede haber un grupo amino, como en las 6-amino, 8-metilquinolonas, denominadas 6-aminoquinolonas, más activas frente a G⁺.

La mayor o menor actividad de las moléculas con sustituciones en esta posición va a depender también de las sustituciones variables, como en las quinolonas clásicas.

II.2.3.3.- Sustituciones variables: permiten distintas opciones de cambio.

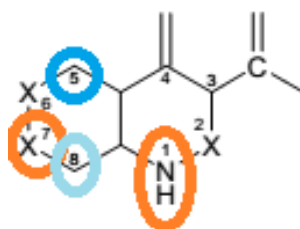


Figura II.6.- Sustituciones variables

- **Esenciales:** su modificación es fundamental para la actividad antimicrobiana y para las características farmacocinéticas. En posición 1 (R1), el radical de esta posición forma parte del complejo ADN-enzima, y controla la interferencia con la teofilina. La adición de grupos voluminosos aumenta la actividad antibiótica a G⁺ y a G⁻. Puede haber un grupo etilo, como en las denominadas etilquinolonas; éstas son el ácido nalidíxico, el ácido pipemídico, norfloxacin, perfloxacin, enofloxacin y lomefloxacin; un grupo etilfluorado como en fleroxacin; un grupo ciclopropil presente en la ciprofloxacina, sparfloxacin, clinafloxacina, grepafloxacin y balofloxacin (estas dos últimas descartadas por ser tóxicas). Este grupo actúa contra enterobacterias y Pseudomonas.

Si se sustituye con un anillo 2,4-difluoropentil, se incrementa la actividad frente a G⁺, como en el caso de temafloxacin, tosufloxacin y trovafloxacin. Un radical terbutilo en esta posición, con un grupo metoxi en C8, mejora la actividad frente a micobacterias.

En posición R7: esta posición interactúa directamente con la ADN-girasa o con la topoisomerasa IV. Controla la interferencia con la teofilina y la fijación a los receptores GABA. La adición de distintos heterocíclicos en esta posición modifica la farmacocinética, y mejoran el espectro. Se observa que las aminopirrolidinas mejoran el espectro hacia G+, como en clinafloxacin, gatifloxacin y sitafloxacin. La piperazina facilita la permeabilidad hacia el interior del microorganismo y aumenta el espectro hacia G-, presente en ciprofloxacino, norfloxacino y ofloxacino. Los metil derivados de piperacinas presentan buena acción frente a G+, aumentan la solubilidad y la semivida de eliminación; está presente en esparfloxacino, grepafloxacino y levofloxacino.

Con la adición de un grupo 3-aminometil y 4-metiloximopirrolidina se sintetizó el gemifloxacino; esta molécula tiene buena actividad frente G+, pero escasa frente G- y perdiendo algunas de sus características farmacocinéticas por ser un grupo tan voluminoso. Puede presentarse un segundo anillo fusionado a la pirrolidina, lo que mejora la actividad frente a G+, como en el caso de moxifloxacino (di azabicyclo) y trovafloxacino (azabicyclo).

Actualmente se está observando que la adición de grupos voluminosos en esta posición parece conferir protección frente a la resistencia mediada por bombas de flujo externo, posiblemente porque aumenta la hidrofobicidad, disminuye la probabilidad de selección de mutaciones en cepas silvestres e influye en determinar la diana principal.

- Accesorias: en posición X8: la presencia de un N o de un C en esta posición es la diferencia entre el grupo 4-naftiridona y 4-quinolona. Los cambios aquí influyen en la configuración estérica de la molécula, la actividad frente a anaerobios, la farmacocinética, la fototoxicidad y en la genotoxicidad de la molécula.

Las 4-naftiridonas (presentan un N en esta posición) poseen mejores características farmacocinéticas. Si se sustituye por un F* se produce un aumento significativo de la actividad biológica, y mejora la absorción oral. El cambio por un átomo de cloro (Cl) también aumenta la absorción oral. La presencia de uno u otro radical va a determinar mayor afinidad por la topoisomerasa IV o por la ADN-girasa.

- Más accesorias: sustituciones en R5. Influyen en la configuración estérica, aunque, a su vez, están influenciadas por sustituciones en otras posiciones.

Conviene aclarar que las sustituciones en las posiciones 2 y 5 podrían incidir en la inhibición de la ADN-girasa y afectar, en consecuencia, la estereoquímica de la molécula. Por otra parte, los radicales con que se las podría sustituir no agregan potencia a la acción de la fluoroquinolona, determinada por radicales en las otras posiciones.

En resumen, se puede decir que las investigaciones sobre las quinolonas han derivado en la ampliación e intensificación de la acción antimicrobiana, en la mejora de sus características farmacocinéticas, a la vez que se disminuyen o evitan efectos colaterales adversos. (Gutierrez-Zufiaurre, N., 2004; Andersson y MacGowan, 2003; Martínez y col., 2006).

II.2.3.4.- Estructura química de la marbofloxacina

Su fórmula molecular es C₁₇H₁₉FN₄O₄, con un peso de 362,36 g/mol, y su nombre químico es 9-fluoro-2,3-dihidro-3-metil-10(4-metil-1-piperacínil)-7-oxo-7H-pirido (3,2,1-ij)(4,1,2) benzoxadiacina-6-ácido carboxílico (IUPAC, 1976).

Las diversas sustituciones le confieren sus características especiales. Por un lado, el F* en posición 6 le brinda potencia, como a todas las fluoroquinolonas, a la que se le suma el anillo de piperacina en C10 y el O en posición 1. Por otra parte, se mejora la formación del complejo ADN-ADN-girasa y la penetración en la célula bacteriana por el ciclo piperacínico. Además, el grupo metilo unido al anillo piperacínico aumenta el volumen de distribución del fármaco porque aumenta su liposolubilidad. Por último, el núcleo tricíclico le brinda mayor estabilidad metabólica a la molécula (Marbofloxacin Reference Book, 1999, Marín, P. y col., 2009, Haritova y col., 2006).

Pero la mayor diferencia respecto a las otras fluoroquinolonas reside en el anillo ciclo oxidiazina unido al núcleo quinolónico, que le otorga mayor biodisponibilidad y un período más extenso de semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$), lo que en la práctica se traduce en la administración cada 24 horas, manteniendo concentraciones por encima de la MIC durante más de 12 h; presenta además un mayor espectro frente a G+ y anaerobios (Marbofloxacin Reference Book, 1999, Marín, P. y col., 2009, Haritova y col., 2006; Goudah y Mouneir, 2008).

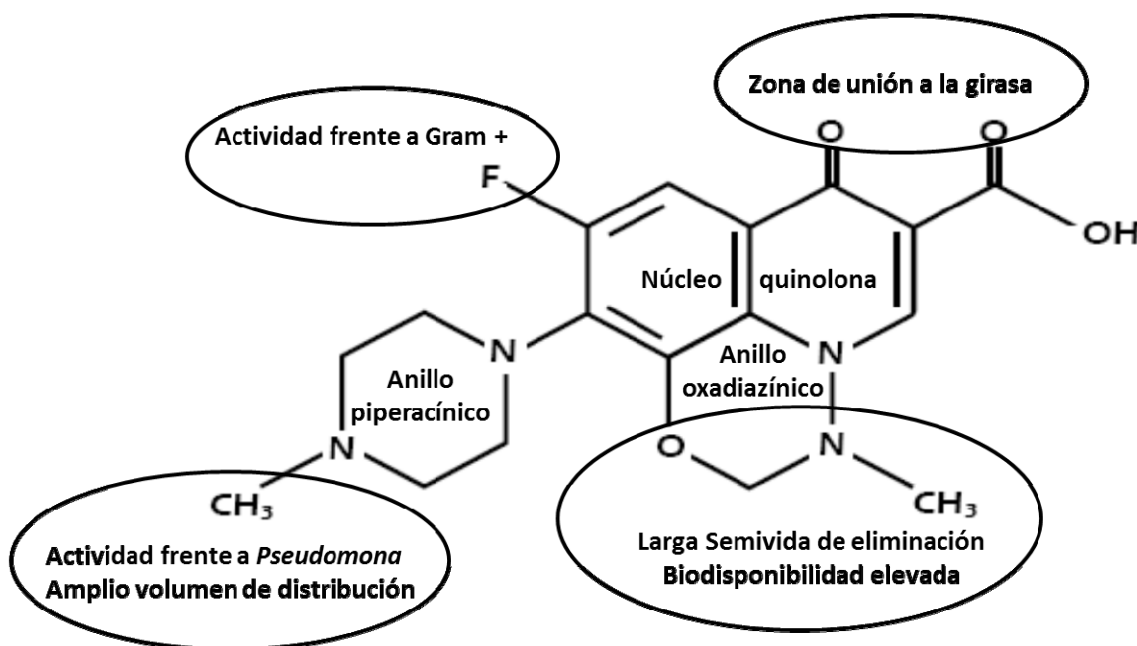


Figura II.7. - Estructura de marbofloxacina

II.2.4.- Propiedades físico-químicas

Las quinolonas poseen características físico-químicas particulares que hacen de ellas sustancias especiales para su utilización como medicamentos. Al considerar sus

propiedades físicas, se observa que son sustancias cristalinas, de color blanco amarillento o amarillo pálido, termorresistentes y muy estables a temperatura ambiente, fotosensibles y con baja hidrosolubilidad, siendo poco solubles o insolubles en agua a pH neutro y en solventes orgánicos, y solubles en soluciones ligeramente alcalinas o ácidas. Si observamos sus propiedades químicas, vemos que son ácidos orgánicos débiles, con grupos potencialmente ionizables, de carácter anfótero, y, en algunos casos, con efecto quelante.

Algunas quinolonas, tienen un solo grupo ionizable (3-carboxilo), como el ácido nalidíxico, la flumequina y el ácido oxolínico; otras, como el ofloxacino, norfloxacino y enofloxacino, presentan dos grupos ionizables (un 3-carboxilo y un sustituyente del N-4 de la piperacina) (Park y col., 2002); las fluoroquinolonas también poseen dos grupos potencialmente ionizables (un 3-carboxílico de carácter ácido y el nitrógeno protonable del grupo amino de carácter básico), que les confieren el carácter anfótero que permite que sean solubles en soluciones ácidas y básicas, al depender del pH de la solución (en este caso el medio extracelular) y del pKa de la quinolona (Orero, A., 2002).

En función del pH extracelular, se pueden encontrar cuatro formas: un catión (H_2Q^+), una especie neutra (HQ°), un zwitterión (HQ^\pm) y un anión (Q^-) (Gutierrez-Zufiaurre, N., 2004).

Las constantes de disociación (K_1 y K_2) se definen con las siguientes ecuaciones:

$$K_1 = [HQ] [H^+] / [H_2Q^+]$$

$$K_2 = [Q^-] [H^+] / [HQ]$$

$$\text{Donde } [HQ] = [HQ^\circ] + [HQ^\pm]$$

Y las fracciones de cada especie, a un determinado pH, estarán determinadas por las siguientes ecuaciones:

$$f (H_2Q^+) = [H^+]^2 / \{[H^+]^2 + K_1 [H^+] + K_1K_2\}$$

$$f (Q^-) = K_1K_2 / \{[H^+]^2 + K_1 [H^+] + K_1K_2\}$$

$$f (HQ) = [H^+] K_1 / \{[H^+]^2 + K_1 [H^+] + K_1K_2\}$$

Así, de acuerdo a la constante de disociación de la amina y del ácido carboxílico, se puede aclarar:

Si K_a de la amina > K_a del Ácido	→	Predomina especie neutra (HQ°)
Si K_a de la amina < K_a del Ácido	→	Predomina un zwitterión (HQ^\pm)
En solución, a pH alto	→	Predomina un catión (H_2Q^+)
En solución, a pH bajo	→	Predomina un anión (Q^-)

Alcanza el máximo de solubilidad cuando el pH es igual al punto isoeléctrico, limitando en este caso la solubilidad intrínseca (S_0) de la molécula.

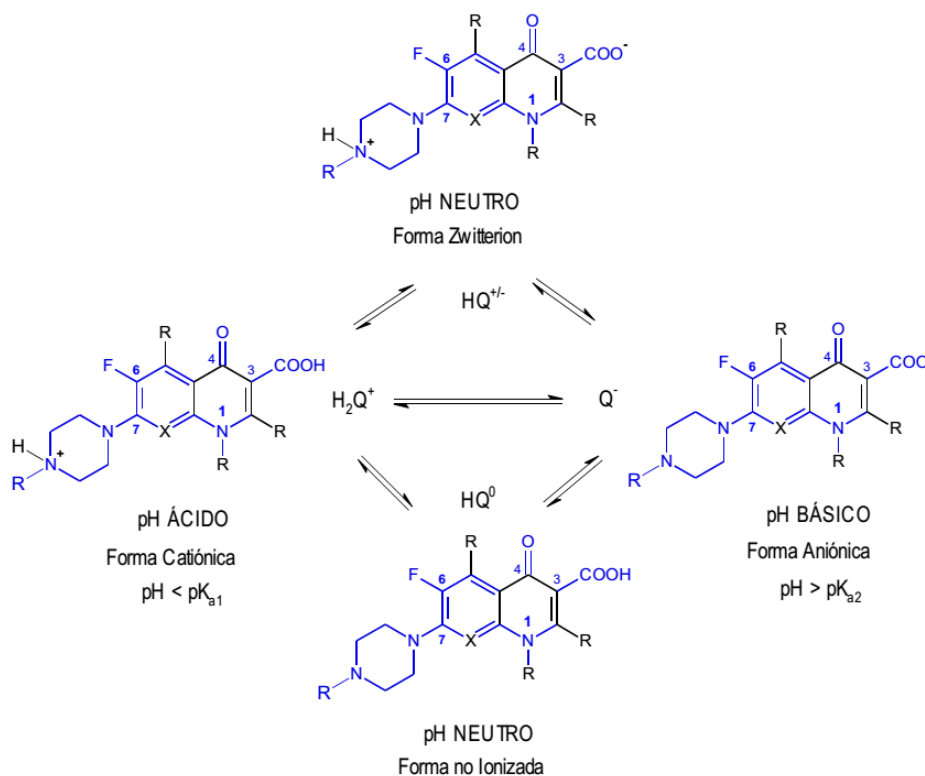


Figura II.8.- Equilibrios de ionización para las fluoroquinolonas en función del pH extracelular

Observamos que, a pH menor que pKa₁, las quinolonas presentan carga positiva; a un pH mayor que el pKa₂ tienen carga negativa; y, a pH neutro, presentan una forma no ionizada.

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

QUINOLONAS	pKa ₁	pKa ₂
Ciprofloxacino	6,0	8,8
Difloxacino	6,1	7,6
Enofloxacino	6,0	8,5
Enrofloxacino	6,0	8,7
Flerofloxacino	5,7	8,0
Lomefloxacino	5,8	9,3
Norfloxacino	6,4	8,7
Ofloxacino	6,1	8,2
Pefloxacino	6,3	7,6
Sarafloxacino	6,2	8,6
Temafloxacino	5,6	8,8

Se pueden mencionar tres situaciones muy importantes a considerar para la comprensión de la dinámica de estas moléculas:

Por un lado, se observa que el pH extracelular es fundamental al momento de estudiar el ingreso de las fluoroquinolonas al interior celular porque, a un pH fisiológico, se encuentran en forma no ionizada, por lo que pueden difundir, en mayor o menor grado,

pasivamente, a través de la membrana plasmática (Orero y col., 2002; Michot y col., 2005), siendo muy baja su solubilidad en agua (Martínez y col., 2006).

Por otra parte, si nos referimos al trabajo de Piddock, L. (1994), es importante considerar las concentraciones de estas moléculas en el interior de los microorganismos; para ello se utiliza el coeficiente de reparto octanol/agua, K_{ow} , que hace referencia a las concentraciones de una sustancia en la mezcla bifásica de estos dos disolventes en equilibrio, por lo que se puede medir la solubilidad diferencial de un soluto en esos dos disolventes (Tálens-Viscontiy col., 2002). Así, en caso de G+, cuanto más liposolubles sean, tendrán mayor penetración en las bacterias (K_{ow} alto); el caso inverso se presenta para las G-, en donde será mayor el ingreso del fármaco a menor liposolubilidad de la quinolona (K_{ow} bajo).

Por último, Gobernado y Santos (2002) afirman que para cuantificar el grado de penetración de los antimicrobianos al interior de las células fagocíticas, se utiliza la relación entre la concentración intracelular y la extracelular (I/E). Se conoce que para las fluoroquinolonas este cociente varía entre 2 y 28; esta variabilidad se relaciona con el tipo de célula, el fármaco y el método utilizado para dicha cuantificación, entre otros factores. En la tabla II.4 se observan los valores del cociente I/E de algunas quinolonas.

Tabla II.4.- Penetración de diferentes quinolonas en polimorfonucleares, según la relación I/E

Quinolona	Polimorfonucleares
Ácido pipemídico	2,4
Norfloxacino	2,2 – 5,7
Ciprofloxacino	4 – 7
Levofloxacino	6,7 – 9,8

- ❖ La marbofloxacina es una sustancia soluble en agua y menos soluble en condiciones alcalinas (Marbofloxacin Reference book, 1999). Presenta un pKa de 5,5-8,2, con un punto isoeléctrico de 6,85 (Sörgel y Kinzig, 1993; Martínez y col., 2006). La solubilidad es de 1000 g/L a pH 1 y pH 10 (Lombardo Agüí, M. 2012) y posee una baja tasa de unión a proteínas plasmáticas (Bregante y col., 2000), de entre 22 y 30 % para especies rumiantes (Goudah y Mouneir, 2008; Aliabadi y Lees, 2002).

II.2.5.- Farmacodinamia

II.2.5.1.- Mecanismo de acción

En las células procariontas, el ADN se encuentra *superenrollado* dentro del citoplasma debido a que el tamaño de éste es muy superior al de la bacteria. Para que se pueda realizar esta acción, y con ello se lleven a cabo los procesos de replicación, transcripción, reparación, recombinación y transposición, intervienen varias enzimas denominadas topoisomerasas. La topoisomerasa II, denominada ADN-girasa en las células procariontas, es la que corta la doble cadena de ADN, introduce el *superenrollamiento* negativo y sella nuevamente el ADN. También realiza el

superenrollamiento positivo, fundamental para la replicación. Esta enzima está formada por cuatro subunidades: dos monómeros A, productos del gen *gyrA*, y dos monómeros B, codificados por el gen *gyrB*. Las subunidades A cortan el ADN; las subunidades B producen el *superenrollamiento*, para lo que utilizan un ATP por cada giro y, finalmente, de nuevo las subunidades A sellan los cortes que ellas mismas realizaron (Martínez y col., 2006).

La topoisomerasa IV también tiene un rol importante en la replicación del ADN; su función parece ser la separación de las cromátidas hermanas para que puedan segregarse a las células hijas al finalizar cada ciclo de replicación. Esta enzima tiene una estructura similar a la anterior. Está compuesta por dos subunidades codificadas por el gen *parC* y dos subunidades codificadas por el gen *parE* (Martínez y col., 2006).

El ingreso de las quinolonas en las células bacterianas se realiza a través de las porinas y se acumulan en el interior de las bacterias susceptibles. Algunas bacterias G+, con utilización de energía, pueden expulsar el antibacteriano fuera de la célula. Consideradas en general, las quinolonas ejercerían su actividad contra las bacterias G- a través de la ADN-girasa, mientras que la diana principal de las G+ es la topoisomerasa IV, salvo casos especiales, como el *Streptococcus pneumoniae* donde ejercen su acción a través de la ADN-girasa, o la topoisomerasa IV, o de ambas en conjunto, según la estructura de la quinolona. Es decir, la acción de las quinolonas varía en relación con las especies bacterianas más afectadas (Tálens-Visconti y col., 2002).

Ya en el interior de las bacterias, la acción de las quinolonas se realiza básicamente mediante la formación de un complejo *quinolona-enzima-ADN* que provoca cambios conformacionales en las enzimas mencionadas; éstos bloquean la acción normal de dichas moléculas, inhiben la síntesis de ADN y producen finalmente la muerte de la bacteria a través de la producción de exonucleasas y lisis celular. En concreto, la acción propiamente dicha se ejerce por bloqueo de la acción de la topoisomerasa II debido a la deslocalización de subunidades de girasa, y por atrapamiento del complejo de la topoisomerasa IV sobre el ADN. La inhibición de la topoisomerasa II desencadena a su vez un mecanismo de autoprotección de la bacteria, denominada respuesta S.O.S. de reparación de ADN, mecanismo bacteriano que lleva a la formación de endonucleasas que destruyen el mismo ADN bacteriano; queda así demostrado el efecto bactericida de las quinolonas (Vancutsem y col., 1990).

A medida que aumenta el número de bacterias muertas debido a un incremento en la concentración del antibacteriano, principalmente de las fluoroquinolonas y se alcanza el punto más alto de la concentración bactericida máxima, se produce una disminución en la tasa de muerte bacteriana y puede aparecer una curva concentración-respuesta bifásica conocida como efecto paradójico o efecto "Eagle", proceso que ocurre debido a la inhibición de la síntesis de ARN por las altas concentraciones de los fármacos (200 veces la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) que provoca una bacteriostasis (Martínez y col., 2006). Esto se pone de manifiesto generalmente en casos de cortas exposiciones a los antimicrobianos. Recordemos que las quinolonas se comportan como antimicrobianos concentración dependiente (Walker, R.D., 2000).

Otro efecto de la acción de las quinolonas consiste en la liberación de polisacáridos, lo que induce el incremento de la hidrofobicidad de la superficie celular con

la consiguiente vulnerabilidad a otros fármacos, y el aumento de la capacidad fagocítica de los macrófagos alveolares y polimorfonucleares (Gobernado y Santos, 2002).

En la tabla II.5 se muestra la modalidad de acción de las quinolonas para producir la muerte celular en función del requerimiento de la quinolona y del tipo de bacteria afectada, refiriéndose éste al momento de reproducción de las mismas (Martínez y col., 2006).

Tabla II.5.- Modalidad de acción de las quinolonas en función del tipo de bacteria afectada (Martínez y col., 2006)

	Requerimiento de la quinolona	Tipo de bacterias afectadas	Modalidad de acción
A	Requiere ARN y síntesis de proteínas	Bacterias en división	Bloquea la replicación mediante la formación del complejo girasa-quinolona sobre el ADN
B	No requiere ARN ni síntesis de proteínas	Puede actuar sobre bacterias que no están multiplicándose	Disloca las subunidades de la girasa y la formación de un complejo ternario
C	Requiere ARN y síntesis de proteínas	No requiere división de las bacterias	Atrapa la topoisomerasa IV sobre el ADN

Por último, es preciso destacar que las fluoroquinolonas no afectan en gran medida a la topoisomerasa II de las células eucariotas, homóloga de la ADN-girasa de las procariontas, debido a que poseen diferencias estructurales y funcionales. Gootz y col. (1994) y Brown, S. (1996) señalan que la configuración molecular *cis* de las quinolonas posee mayor afinidad por la ADN-girasa de las células bacterianas que su semejante de configuración *trans*. Por su parte, Vancutsem y col. (1990), sostienen que se necesitaría 100 veces más de la concentración del fármaco para inhibir las enzimas topoisomerasas en los mamíferos, pudiéndose demostrar el amplio margen de seguridad de éstos compuestos.

II.2.5.2.- Espectro antimicrobiano

Las fluoroquinolonas son consideradas ATM de amplio espectro que incluye bacterias G-, G+, micoplasmas y anaerobios, sin embargo los estudios *in vitro* han revelado la existencia de diferencias en la actividad frente a distintos organismos. Así, la mayor actividad de algunas fluoroquinolonas se ejerce frente a enterobacterias como *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella spp.* y *Klebsiella pneumoniae* (Vancutsem y col., 1990), todas bacterias G-. Otros autores mencionan otras especies G- sensibles a las fluoroquinolonas como *Campylobacter spp.*, *Aeromonas spp.* y algunas especies de *Pseudomonas*, en especial *Haemophilus influenzae* (Barry, A., 1989; Phillips y col., 1998; Vancutsem y col., 1990; Brown, S., 1996; Lecoeur Bitchatchi y Kolf Clauw, 1998; García y col., 2000).

Fluoroquinolonas más modernas han demostrado fuerte actividad frente a algunas *Pseudomonas*, (*Ps. Fluorensceus*, *Ps. Acidovorans* o *Ps. putida*), a *Moraxella spp.*, *Brucella melitensis*, *Pasteurella multocida* y *Bordetella bronchiseptica*. (Phillips y col., 2000).

De igual forma la actividad frente a microorganismos G+, es variable, más activas contra estafilococos que contra estreptococos y en general, se pueden presentar

resistencias a las fluoroquinolonas en bacilos entéricos, cocos G+ y estreptococos (Brown, S., 1996).

En cuanto a los anaerobios, distintos autores (Fernandes y col., 1986; Watt y Brown, 1986) los consideran clínicamente resistentes, aunque son relativamente sensibles frente a fluoroquinolonas más modernas. En general, se destaca la capacidad de resistencia de las bacterias anaerobias (Watt y Brown, 1986; Fernandes y col., 1986; Barry, A., 1989).

Tabla II.6.- Espectro antimicrobiano de las distintas fluoroquinolonas

Fluoroquinolona	Agente microbiano	Autor
Norfloxacin	<i>Salmonella spp</i>	Pandini y col., 2014
	<i>Staphylococcus spp.</i>	Kowalski y col., 2015
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Carbone y col., 2001
	<i>Pasteurella multocida</i>	Fera y col., 2003
	<i>Staphylococcus pseudointermeius</i>	Geburu y col., 2011
Enrofloxacin	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pasteurella. multocida</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus uberis</i> <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> <i>Streptococcus suis</i>	Grobbe y col., 2007
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Carbone y col., 2001
	<i>Pasteurella multocida</i>	Fera y col., 2003
	<i>Staphylococcus pseudointermeius</i>	Geburu y col., 2011
	<i>Mannheimia haemolytica</i> <i>Pasteurella multocida</i> <i>Escherichia coli</i>	Grobbe y col., 2007
Ciprofloxacin	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Carbone y col., 2001
	<i>Pasteurella multocida</i>	Fera y col., 2003
	<i>Staphylococcus pseudointermeius</i>	Geburu y col., 2011
	<i>Escherichia coli</i>	Geburu y col., 2011
	<i>Klebsiella</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter</i> <i>Campylobacter</i> <i>Shigella</i> <i>Proteus</i> <i>Pasteurella</i> <i>Mycoplasma</i> <i>Rickettsia</i> <i>Chlamydia</i>	Abo-El-Sooud y Goudah, 2009.
Difloxacin	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Carbone y col., 2001
	<i>Pasteurella multocida</i>	Fera y col., 2003
Orbifloxacin	<i>Escherichia coli</i>	Geburu y col., 2011
	<i>Staphylococcus pseudointermeius</i>	Geburu y col., 2011
Moxifloxacin	<i>Mycoplasma spp.</i> <i>Chlamydia spp.</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Cárceles y col., 2006
	<i>Mycoplasma spp.</i> <i>Chlamydia spp</i>	Abd El-Aty y col., 2007

Tabla II.7. - Espectro antimicrobiano de la marbofloxacina

Microorganismo	Especie	Autor
<i>Escherichia coli</i>	Pavos	Haritova y col., 2006; Pellet y col., 2006
	Cabras	Waxman y col., 2003
	Bovinos	Meunier y col., 2004; Schneider y col., 2004; Grobbel y col., 2007; Baroni y col., 2014
	Caninos y Felinos	Meunier y col., 2004
	Pavo	Pellet y col., 2006
	Cerdos	Grobbel y col., 2007
	Búfalos egipcios	Goudah y Mouneir, 2008
<i>Mannheimia haemolytica</i>	Terneros	Ismail y El-Kattan, 2007
	Bovinos	Aliabadi y Lees, 2002; Meunier y col., 2004; Grobbel y col., 2007
	Ovejas	Sidhu y col., 2010
<i>Pseudomonas spp</i>	Caninos y Felinos	Wildermuth y col., 2007; Meunier y col., 2004
	Conejos	Rougier y col., 2006
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cabras	Dova y col., 2007
	Bovinos	Meunier y col., 2003; Schneider y col., 2004; Díaz, D., 2012
	Búfalos egipcios	Goudah y Mouneir, 2008
<i>Pasteurella multocida</i>	Cabras	Dova y col., 2007
	Felinos	Fera y col., 2003
	Bovinos	Aliabadi y Lees, 2002; Meunier y col., 2003; Thomas y col., 2001
	Conejos	Rougier y col., 2006
<i>Salmonella spp</i>	Cabras	Dova y col., 2007
	Bovinos	Meunier y col., 2003
<i>Streptococcus neumonie</i>	Búfalos egipcios	Goudah y Mouneir, 2008
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Búfalos egipcios	Goudah y Mouneir, 2008
<i>Shigella</i>	Búfalos egipcios	Goudah y Mouneir, 2008
<i>Enterobacter</i>	Búfalos egipcios	Goudah y Mouneir, 2008
<i>Campylobacter</i>	Búfalos egipcios	Goudah y Mouneir, 2008
<i>Mycoplasma bovis</i>	Bovinos	Aliabadi y Lees, 2002
	Cabras	Balikci y col., 2008
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Felinos	Carbone y col., 2001
<i>Staphylococcus pseudointermeius</i>	Caninos	Gebry y col., 2012
<i>Streptococcus uberis</i>	Bovinos	Meunier y col., 2003
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Bovinos	Meunier y col., 2003
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Bovinos	Meunier y col., 2003
<i>Pasteurella multocida</i>	Bovinos	Meunier y col., 2003
<i>Haemophilus somnus.</i>	Bovinos	Meunier y col., 2003
<i>Staphylococcus intermedius</i>	Caninos y Felinos	Meunier y col., 2004
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Equinos	Bousquet-Melou y col., 2002
	Caninos	Šeol y col., 2002
<i>Pasteurella haemolytica</i>	Bovino	Thomas y col., 2001
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Conejos	Rougier y col., 2006
	Bovinos	Grobbel y col., 2007
	Cerdos	Grobbel y col., 2007
<i>Staphylococcus spp</i>	Conejos	Rougier y col., 2006

Tabla II.8. - Actividad *in vitro* de la marbofloxacin.

Microorganismo	MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)	Autor
<i>Actinobacillus pluroneuminie</i>	0,016	0,027	Grobbel y col., 2007
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	0,25	0,794	
<i>Pasteurella haemolytica</i>	0,016 – 0,019	0,17	
<i>Escherichia coli</i>	0,011 – 0,016	0,145 – 0,25	Meunier y col., 2004 Grobbel y col., 2007
<i>Stapylococcus aureus</i>	0,14 – 0,25	0,217 – 0,5	
<i>Salmonella spp.</i>	0,015	0,073	Meunier y col., 2004
<i>Streptococcus spp.</i>	0,68 – 1,7	3,8	
<i>Haemophilus somnus</i>	0,021	0,03	Marbofloxacin Reference Book, 1999; Spreng y col., 1995; Thomas y col., 1997.
<i>Klebsiella spp.</i>	0,02 – 0,04	0,05 – 0,085	
<i>Mycoplasma bovis</i>	0,35	0,48	
<i>Mycoplasma hyopneumonie</i>	0,03	0,06	
<i>Proteus spp.</i>		1,8	
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	0,27	0,94	
<i>Stapylococcus spp</i>	0,24 - 1	0,49	
<i>Stapylococcus intermedius</i>	0,18	0,23	
<i>Enterobacter spp.</i>	0,018 – 0,02	0,11 – 0,28	

II.2.5.3.- Efecto post-antibiótico

Bigger, J.W., en 1944, demostró por primera vez que la acción de la penicilina sobre bacterias G+ impedía el crecimiento normal de éstas durante algunas horas posteriores a la eliminación total del antibiótico (Pastor y Cantón, 1999). Pero fue en el año 1949 cuando se comprobó que el efecto bactericida de la penicilina sobre algunos microorganismos perduraba, *in vivo*, durante muchas horas después de que el fármaco había descendido a concentraciones ineficaces (Eagle y col., 1950).

Se considera como efecto postantibiótico (PAE) al tiempo en que perdura la supresión del crecimiento bacteriano tras una exposición al agente antimicrobiano (Bundtzen y col., 1981). El PAE permanece después de que los niveles del fármaco ya no son detectables, y por lo tanto, el conocimiento de la duración del PAE podrá ser de interés clínico en el establecimiento de programas de dosificación para el tratamiento de infecciones (Craig, W.A., 1993).

Se determina mediante la diferencia entre el tiempo que tarda un cultivo problema, sometido a la acción antimicrobiana y un cultivo control del mismo tamaño de inóculo en crecer en 1 log UFC/ml, siendo:

$$PAE = T - C$$

Donde *T* es el tiempo que tarda el recuento de células viables en aumentar en 1 log desde el tiempo 0 en el cultivo problema y *C* es el tiempo correspondiente en el cultivo control. Hay que tener en cuenta que se presentan diferencias en el PAE en función de la acción antimicrobiana *in vitro* e *in vivo*. En el primer caso, el PAE se relaciona con dos factores: grado de concentración del fármaco y tiempo de exposición de la bacteria al mismo.

En los casos de aplicación antimicrobiana *in vivo*, hay que considerar los siguientes factores que pueden alterar la acción terapéutica:

- Concentración bacteriana en el sitio de infección.
- Tiempo de exposición al antimicrobiano.
- pH y tamaño del inóculo.
- Medio que aloja al antimicrobiano.

El PAE podría relacionarse también con alteraciones en la bacteria producidas, fundamentalmente por la disminución de su acción virulenta, que da como resultado la alteración de la actividad hemolítica (observada sobre *E. coli* por quinolonas), la disminución de la síntesis de proteasas y exotoxina A de *P. aeruginosa* frente a concentraciones subinhibitorias de ciprofloxacina) y la disminución de la capacidad de adherencia de la bacteria a las células eucariotas, por efecto de las fluoroquinolonas. En consecuencia, el metabolismo de las bacterias se ve alterado y ello redundaría en la inhibición de la bomba de eflujo que se halla carente de energía para expulsar al antimicrobiano (Pastor y Cantón, 1999).

Otros autores mencionan otros factores determinantes del PAE; Brown, S. (1996) lo relaciona con una disminución de la adherencia del microorganismo a las células y Lecoeur Bitchatchi y Kolf Clauw (1998), sugieren que hay un refuerzo de los mecanismos de defensa del huésped (opsonización o fagocitosis facilitada) y defecto en la formación de la pared interna de la bacteria.

Las fluoroquinolonas presentan un PAE prolongado (Walker, R.D., 2000), la mayoría entre 1,5 a 3 h, tanto para bacterias G+ como G-. Las quinolonas con PAE más prolongado son esparfloxacino y ofloxacino (2 a 5 h). Por otro lado, las que presentan un PAE más breve son perfloxacino (menos de 90 minutos) y norfloxacino (menos de 60 minutos).

II.2.5.3.1.- Efecto post-antibiótico de la marbofloxacina

La duración del PAE en la marbofloxacina se ha estudiado en cepas aisladas de caninos, felinos y bovinos. Se ha observado un PAE significativo en bacterias G+ y G- cuando previamente se alcanza concentraciones iguales o superiores a la MIC y es activa tanto en fase estacionaria como en la fase de crecimiento exponencial de la bacteria. En general, el PAE aumenta conforme aumenta la concentración y la muerte de los microorganismos sucede dentro de los 30 minutos posteriores a la exposición (Plumb, D., 2010).

Tabla II.9. - Efecto post antibiótico de la marbofloxacina (Spreng y col., 1995; Marbofloxacina Reference Book, 1999)

Microorganismo	Especie	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Concentración	PAE (h)
<i>Staphylococcus intermedius</i>	Canino	0,2	2 x MIC	2,1
<i>Staphylococcus aureus</i>	Felino	0,2	2 x MIC	0,7
			4 x MIC	1,1
<i>Escherichia coli</i>	Bovino	0,024	2 x MIC	0,53
			4 x MIC	1,9
	Canino	0,01	2 x MIC	0,9
			4 x MIC	1,7
<i>Salmonella typhimurium</i>	Bovino	0,024	2 x MIC	0,5
			4 x MIC	1,33
<i>Pasteurella multosida</i>	Felino	0,02	2 x MIC	0,7
			4 x MIC	1,1
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Porcino	0,05	2 x MIC	1,1
			4 x MIC	4,64

Carbone y col. (2001) observaron que el PAE aumenta en función de la concentración y el tiempo de exposición. En su trabajo con *Bordetella bronchiseptica*, obtuvieron diferentes tiempos de PAE de acuerdo a la duración de la exposición del fármaco al microorganismo:

Tabla II.10. - PAE de marbofloxacina frente a *B. bronchiseptica*, en felinos (Carbone y col., 2001).

PAE frente a <i>B. bronchiseptica</i>	Exposición de 2 horas		Exposición de 1 hora	
	10 x MIC	5 x MIC	10 x MIC	5 x MIC
Media y rango	8,2 (4–12)	4,3 (2–6)	4,2 (3-7)	3,3 (2–4)

II.2.5.4.- Resistencias bacterianas

Se entiende por resistencia bacteriana la insensibilidad de las bacterias frente a la acción del agente antimicrobiano; esto lo consiguen por medio de mutaciones, y por la gran capacidad para transmitir esa información a su descendencia (Mosquito y col., 2011). En la práctica, esa resistencia se observa cuando el crecimiento del microorganismo puede ser inhibido mediante concentraciones superiores del fármaco a las que habitualmente alcanzaba en el lugar de la infección (Pérez, R.D., 1998).

A partir de la década de los años 60, la mayoría de los patógenos bacterianos presentaron resistencias; por ende, los esfuerzos se han dirigido hacia la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos que reemplacen a aquellos cuya utilidad se vio mermada por la aparición de resistencias. Es decir, se observó la necesidad de utilizar antimicrobianos que alcancen concentraciones que excedan los valores de la MIC de los posibles mutantes resistentes (García Castillo, M., 2013). Cabe destacar que en la mayoría de las situaciones esa resistencia se da por el mal uso y abuso de los antibióticos, debido a que se utilizan en muchas patologías que no son de origen infeccioso o para prevenir posteriores ataques de los microorganismos, o, si las manifestaciones clínicas son leves, se utilizan en menor dosis de la adecuada. Lo más peligroso de este uso inadecuado es el deterioro del equilibrio ecológico y la salud pública (Gérvás, J., 2000).

Los mecanismos de resistencia pueden ser transmitidos de generación en generación por transferencia vertical (a través de mutaciones) u horizontal (sea por plásmidos, transposones, integrones y/o casetes génicos). La resistencia mediada por plásmidos: ha sido poco observada en quinolonas; la primera referencia la realiza Martínez-Martínez y col. (1998) en relación a *Klebsiella pneumoniae*. En general, los plásmidos portarían dos mecanismos de resistencia basados en la síntesis de moléculas que interfieren en el mecanismo de acción de las quinolonas (acetiltransferasa, codificado por el gen *aac (6')-Ib* y una proteína *QnrA* (*quinolone resistance*) que inhibe la acción letal de la ADN- girasa (Robicsek, y col., 2006).

Según Tálens-Visconti y col. (2002), los mecanismos de resistencia a las quinolonas incluyen modificaciones de la diana o de acceso al sitio diana, alteraciones en la permeabilidad de la membrana, expulsión por transportadores endógenos activos, destrucción o inactivación del antibiótico e incluso, procesos fisiológicos para liberarse de sustancias tóxicas, como es el caso del sistema AcrAB de *E.coli* (Ma y col., 1995).

- Alteraciones en las enzimas dianas:

Se producen por mutaciones cromosómicas en segmentos definidos de los genes que codifican la ADN-girasa y topoisomerasa IV; como consecuencia de las mutaciones en *gyrA* (el gen que codifica la subunidad A de la ADN-girasa) se generan resistencias principalmente de las bacterias G- a las quinolonas; por su parte, las mutaciones en *par C* (gen que codifica la subunidad C de la topoisomerasa IV) dan lugar a resistencias a las quinolonas por parte de las bacterias G+, en general. Estos segmentos originan la “Región Determinante en la Aparición de Resistencia Bacteriana a las Quinolonas” (QRDR) (Tálens-Visconti y col., 2002)

Andersson y MacGowan (2003) indican que la resistencia a algunas quinolonas (ciprofloxacina y norfloxacina), puede deberse a una mutación puntual en los genes *gyrA* y *gyr B* que, al modificar la conformación de la girasa, interrumpen la afinidad de la bacteria con las fluoroquinolonas.

- Reducción de la penetración en las bacterias por alteraciones en la membrana externa bacteriana:

Ésta es una resistencia propia de las bacterias G-. Se deben a alteraciones de los genes que codifican los canales de las porinas, lo que impide la entrada del quimioterápico en la bacteria. Es el caso de *Escherichia coli*, donde el gen *marA* regula la síntesis de los poros que estarían formados por la proteína *OmpF* (Pidcock, L., 1994).

- Expulsión del antimicrobiano desde el medio intracelular al extracelular por acción de transportadores endógenos activos:

La expulsión del quimioterápico es debida a las bombas de eflujo, tanto en bacterias G+ como G-. La resistencia se manifiesta por la sobreexpresión de estas bombas que impide la acumulación del fármaco; esto va a depender tanto del microorganismo como de la quinolona actuante, ya que existen varias bombas de eflujo, y varias de ellas, son capaces de expulsar diferentes antimicrobianos; así, se favorece la presentación de resistencias cruzadas; tal es el caso del sistema de transporte que posee

E. coli, denominado AcrAB, que es una bomba de eflujo multifármacos que extrae varias sustancias y una amplia variedad de antibióticos (Nikaido, H., 1996), un caso similar se observa en el transportador multifármaco Bmr del *Bacillus subtilis* (Neyfakh, A., 1992).

Todo ello hizo que se estudiaran inhibidores de estas bombas, como la reserpina, la 5'-metoxihidnocarpina, fenilalanilarginil- β -naftilamida o la M-clorofenil-hidrazona (Piddock, L., 1999; Li y Nikaido, 2004; Tálens-Visconti y col., 2002).

- Destrucción o inactivación de la molécula:

Como hemos mencionado anteriormente, las quinolonas son antibióticos sintéticos y por ello no tienen análogos naturales, esta particularidad conlleva en la ausencia de mecanismos bacterianos basados en la modificación o inactivación de éstas moléculas (Wolfson y Hooper, 1989).

Hay que considerar que todos los mecanismos de resistencia mencionados pueden presentarse solos o combinados; será visible esa resistencia cuando se observe un aumento de la MIC en las bacterias, generalmente en distintos escalones. Se denominan mutantes de primer escalón a las cepas en donde aparece una mutación en una de las enzimas diana que presentarán una moderada resistencia. Una nueva mutación en esas cepas dará lugar a los mutantes de segundo escalón, que poseen una resistencia más elevada, aumentando considerablemente la MIC (Sanders, C., 2001).

Ante la posibilidad de que se establezcan períodos libres de fármaco que favorezcan el desarrollo de variantes normomutadores, se ha desarrollado la teoría de la Ventana de Selección de Mutantes (MSW) (Kesteman y col., 2009; Drlica y col., 2006; Cantón y Morosini, 2011), según la cual, existe un intervalo de concentración del agente antimicrobiano situada por debajo del valor de concentración preventiva de mutantes (MPC) y por encima de la MIC, donde se vería favorecida la aparición de cepas mutantes resistentes.

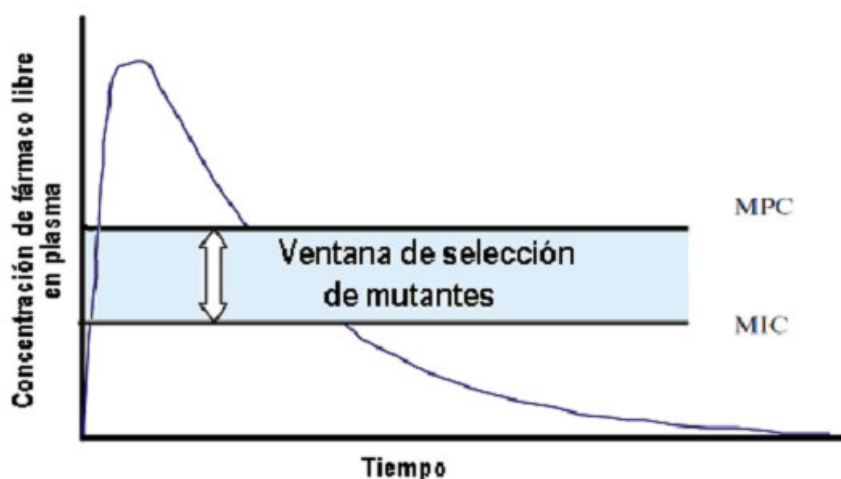


Figura II.9.- Representación esquemática de la ventana de selección de mutantes donde quedan definidos el límite inferior MIC, y el límite superior MPC respectivamente

Lo expuesto revela que los mutantes resistentes se encuentran de manera natural en las poblaciones bacterianas y este hecho es independiente de la presencia del

antimicrobiano en el medio. Toda población bacteriana tiene, con una frecuencia variable, mutantes resistentes que coexisten con la población mayoritaria (Cantón, R., 2006). Bajo determinadas circunstancias, cuando se somete una población bacteriana a la acción de un antimicrobiano, los mutantes resistentes pueden hacerse dominantes al inhibirse la fracción sensible mayoritaria, pero no la de los mutantes resistentes.

En el caso de las fluoroquinolonas, esta resistencia se puede manifestar de forma espontánea en las poblaciones bacterianas con una carga de 10^6 a 10^8 UFC; tras un proceso gradual que se sostiene en varias mutaciones en los genes que codifican las dianas de estos fármacos (Kesteman y col., 2009; Wetzstein, H., 2005). Esta capacidad de seleccionar cepas mutantes ha hecho que las agencias internacionales avisen del peligro que supone y que sean consideradas como fármacos de segunda elección (EMEA/CVPM/SAGAM/184651/2005, januray 2006, february, 2007).

II.2.5.4.1.- Resistencias bacterianas de la marbofloxacina

La resistencia frente a la marbofloxacina fue estudiada por Gebru y col. (2012) en *Staphylococcus pseudintermedius*, causante de la pioderma canina. Demostraron, en la amplificación y secuenciación de la QRDR de la *gyrA*, que en las cepas resistentes hubo intercambios de pares de bases individuales en los genes *Ser-84 a Leu* y *Ser-80 a Arg*; ninguna de las cepas mutantes tenían mutaciones en el QRDR de *gyrB* y *griB* y, si bien se observó una reducción de resistencia en una cepa de *S. pseudintermedius* ante la presencia de reserpina, esa resistencia no estaba dada para marbofloxacina. En todas las demás cepas estudiadas no disminuyó la resistencia frente a la presencia de reserpina.

Las resistencias adquiridas debidas a mutación cromosómica se presentan en *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumonie*, *Acinetobacter spp* y enterococos. (Plumb, D., 2010).

II.2.5.5.- Prevención de resistencias

Los antimicrobianos administrados deben poseer la capacidad de disminuir las poblaciones de mutantes resistentes; para ello deberán utilizarse dosis que consigan una concentración plasmática que supere en todo momento el umbral de las MPC a fin de evitar el crecimiento de una subpoblación mutante (Gebru y col., 2012).

Para lograr este objetivo se debe instaurar la terapia antimicrobiana lo antes posible para que no exista una población bacteriana muy grande, o bien, deben administrarse y sostenerse en el tiempo, dosis tales que se traduzcan en concentraciones por encima de la MSW, tanto en plasma como en tejidos en los que está instalado el microorganismo (Kesteman y col., 2009).

- ❖ Se observó para marbofloxacina, una relación de (MPC/MIC) de 6,6 en el estudio frente *S. pseudintermedius*, mayor valor al observado para enrofloxacina y ciprofloxacina, y menor al registrado para orbifloxacina, lo que sugiere que marbofloxacina presenta la posibilidad de que se desarrollen cepas mutantes en esta bacteria (Gebru y col., 2012); frente a *S. pseudintermedius*, a dosis altas se obtuvieron valores de AUC/MPC > 100, por lo que podría restringir la selección de

capas resistentes; sin embargo, autores como Olofsson y col. (2006 y 2007) y Ferran y col. (2009) indican que una relación AUC/MPC de 35 es suficiente para prevenir el crecimiento de cepas mutantes resistentes.

Otros índices, como el porcentaje de tiempo en que las concentraciones están por encima de la MPC indican que un 33 % del intervalo de dosis es suficiente para prevenir la aparición de cepas mutantes resistentes (Olofsson y col., 2006; Ferran y col., 2009; Olofsson y col., 2007).

II.2.5.6.- Toxicidad y efectos adversos

Las quinolonas en general, y las fluoroquinolonas en particular, son moléculas con escasos y leves efectos secundarios, por lo que se consideran fármacos muy seguros (Bertino y Fish, 2000).

- Gastro-Intestinales: su prevalencia se estima en un 2-20 % (Gobernado y Santos, 2002). Se presentan como alteraciones leves y reversibles. Se observan náuseas, dispepsia, dolor abdominal, vómitos y diarreas. Estas afecciones parecen estar causadas por una irritación directa sobre la mucosa gástrica y por una influencia en el SNC (Mandell y col., 2001). En ocasiones, se puede presentar una mínima alteración de la flora anaerobia gastrointestinal.
- Hepáticos: ocurren en un 2-3 % de los casos. Se producen aumentos leves y reversibles de las enzimas hepáticas (alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa y fosfatasa alcalina). También se han dado casos de aumento de la bilirrubina total (Gobernado y Santos, 2002; Vancutsem y col, 1990). Se ha demostrado que en el hígado de pollo, la enrofloxacin estimula la actividad de la P450IIB e inhibe las monooxigenasa microsomales (Shlosberg y col, 1997)
- SNC: su prevalencia es discutida; para algunos autores es del 1-2 %, mientras que otros mencionan un 11% (Stahlmann, R., 1990; Lipsky y Baker, 1999). Los signos clínicos que se han observado en seres humanos son cefaleas, mareos, inquietud, ataxia, temores, agitación, somnolencia o insomnio, y convulsiones (Brown, S.A., 1996; Martínez y col., 2006).
- Renal: se observan situaciones bien diferenciadas debido a la influencia del pH urinario en la estabilidad de estas moléculas. Los animales que poseen orinas menos ácidas son menos propensos a generar cristales en el sedimento urinario tras la administración de altas dosis de fluoroquinolonas, acción que podría ser causada por la baja solubilidad de las mismas a pH alcalino (Brown, S., 1996). Debido a la baja estabilidad de las fluoroquinolonas en orina ácida, puede aparecer hematuria, nefritis intersticial y fallo renal además de cristaluria en animales que no estén correctamente hidratados (McKellar, Q., 1996).
- Piel: la fototoxicidad comprende dos alteraciones; por un lado, las reacciones fotoalérgicas y por otro las fototóxicas. Para que se manifiesten reacciones fotoalérgicas debe existir exposición previa y la presencia de sustituyentes fotohapténicos, por lo que éstas son muy raras para las fluoroquinolonas en especies animales. La fototoxicidad se observa más frecuentemente y se

manifiesta como eritema o erupción bullosa grave. Esta alteración depende de la descomposición de la fluoroquinolona, la presencia de oxígeno y la acción de los rayos UVA (Fish, D.N., 2001).

- Oculares: con la administración de dosis altas de perfloxacin y ácido nalidíxico se ha observado la presencia de cataratas, punteados opacos en el cristalino, cambios morfológicos de la retina y alteración visual (Schentag y Scully, 1999). Por su parte, Harrison y col. (2006) observaron que enrofloxacin indujo retinopatías en guanacos (*Lama guanicoide*)
- Músculo-esquelético: en este sistema se presentan artropatías y tendinitis. Las artropatías han sido una de las alteraciones más estudiadas pues las producen todas las fluoroquinolonas. Se producen por una inhibición de la síntesis de colágeno y glicosa-aminoglicanos (Fish, D.N., 2001); en los animales jóvenes, tras períodos prolongados de exposición a estos fármacos; se observa la formación de vesículas en el cartílago articular debido a que en los condrocitos fallan los procesos metabólicos de oxidación por su inmadurez.

Las tendinitis suelen manifestarse si se administran en tratamientos prolongados. Yoon y col., (2004) describe el efecto de enrofloxacin sobre cultivo de células de tendón de caballos, adultos y jóvenes indicando que dicha molécula inhibe la proliferación celular, provocando cambios morfológicos y alterando la síntesis de proteoglicanos.

- Cardíacos: las fluoroquinolonas que han demostrado alterar el ritmo cardíaco son el esparfloxacin y grepafloxacin, provocando prolongación del intervalo QT (Sato y col., 2000), manifestándose con arritmias ventriculares o taquicardia ventricular.
- Hematológicos: en pacientes humanos se ha observado anemia, metahemoglobinemia, leucopenia, granulocitopenia, descenso o aumento del tiempo de protrombina y descenso a aumento plaquetario. Se menciona también que podrían causar efectos adversos en el sistema inmunitario (Fish, D.N., 2001).
- Carcinogenicidad y teratogenicidad: la ADN-girasa de las bacterias es homóloga de la topoisomerasa II de los mamíferos, por lo que podría presentarse inhibición de esta enzima en los animales si se administra a altas dosis, produciéndose toxicidad celular y clastogenicidad (roturas en la cadena de ADN), aunque, para que esto suceda, las concentraciones deben ser mayores (300 a 1000 veces las MIC) (Bryskier y Chantot, 1995).

A dosis muy elevadas, levofloxacin en ratones dio lugar a efectos teratogénicos como disminución de peso fetal y mayor mortalidad uterina y gatifloxacin en fetos de ratas provocó malformaciones esqueléticas y mayor mortalidad neonatal y perinatal (Gobernado y Santos, 2002).

11.2.5.6.1.- Toxicidad y efectos adversos de la marbofloxacin

Pocos estudios han investigado la toxicidad específica de la marbofloxacin, tal vez porque los átomos que se encuentran en las posiciones en que se realizan las

sustituciones variables, no presentan potencial tóxico. En concordancia con esto, Bousquet-Mélou y col. (1997) demostraron que la marbofloxacinina no posee potencial epileptogénico tras la administración conjunta con ácido tolfenámico, a dosis hasta 10 veces las recomendadas. En un trabajo posterior, los mismos autores utilizaron una dosis de 2 mg/kg de marbofloxacinina y ketamina (durante una anestesia con ketamina y medetomidina) y no observaron un aumento en el riesgo de episodios convulsivos (Bousquet-Mélou y col., 2000). Se ha descrito también la posibilidad de presentación de anomalías en el cartílago de animales jóvenes: marbofloxacinina está contraindicado en cachorros de hasta 8 meses en perros de razas pequeñas, de 12 meses en cachorros de razas medianas, y de hasta 18 meses en los de raza grande. En pacientes con convulsiones debe usarse con precaución, debido a que puede causar estimulación del sistema nervioso central. También, se hace mención a trastornos gastrointestinales (como vómitos, anorexia, deposiciones blandas y sialorrea), a la disminución de la actividad motora, a la eventual midriasis, temblores musculares y reacciones en el punto de inyección. En la ficha técnica de la especialidad Marbocyl[®], del laboratorio Vetoquinol se menciona que esta molécula puede producir cristaluria. Por su parte, Plumb, D. (2010), menciona que en la base de datos acerca de reacciones adversas de la FDA, existen informes relacionados a la presentación de ceguera tras la administración de marbofloxacinina, aunque no se ha podido establecer la causa de esa alteración.

II.2.5.7.- Interacciones farmacológicas

Los antimicrobianos son fármacos que poseen radicales que permiten la interacción con otras moléculas, sean éstas del organismo animal, bacteriano o con otros fármacos. Estas interacciones pueden presentarse en el mecanismo de acción, en su toxicidad o bien pueden interferir en la cinética del antibiótico.

II.2.5.7.1.- Interacciones farmacodinámicas

- **Interacciones con medicamentos:** La administración conjunta de fluoroquinolonas (sobre todo aquellas que no presentan sustituciones en el anillo piperacínico, como ciprofloxacina, enofloxacina y norfloxacina) con antiinflamatorios no esteroideos puede potenciar la manifestación de convulsiones debido al mecanismo de inhibición competitiva con receptores del GABA (Lomaestro y Bailie, 1991). Por otro lado, la administración de ciprofloxacina se ha asociado con una mayor frecuencia de convulsiones inducidas por foscarnet, que también surgen a través de mecanismos mediados por GABA; su absorción se redujo cuando se administró con didanosina, un fármaco antirretroviral que se formula con un tampón de carbonato de aluminio e hidróxido de magnesio (Fish, D.N., 2001).

También se pudo observar que la ofloxacina provoca una menor tolerancia a la pirazinamida (Horn y col., 1994) y un incremento en la toxicidad de la cicloserina a nivel del SNC.

Respecto a la combinación con otros antimicrobianos, no se han observado situaciones relevantes *in vivo*, y los estudios *in vitro* no demuestran sinergismos a tener en cuenta (Neu, H., 1989).

- ❖ La marbofloxacinina asociada *in vitro* con clindamicina presenta sinergismos frente algunas bacterias, como *Peptostreptococcus*, *Lactobacillus* y *Bacteroides fragilis* Plumb, D. (2010). Si se administrara junto a teofilina y cafeína se podría aumentar la concentración plasmática de estas sustancias Plumb, D. (2010). Esto es debido a que la marbofloxacinina produce la inhibición sobre el sistema enzimático del citocromo P450, responsable del metabolismo de esas sustancias. En la ficha técnica de la especialidad Marbocyl® se menciona que no se ha observado interacción entre marbofloxacinina y agentes anestésicos como isoflurano y medetomidina/ketamina en el perro y en el gato, pero no se han realizados estudios específicos que excluyan esta posibilidad.

- Interacciones con los alimentos: cuando se administran juntos, fluoroquinolonas y alimentos, no se observa un cambio clínicamente relevante en la tasa neta final de absorción del fármaco; sólo hay un pequeño retraso en el tiempo máximo y leve disminución de la concentración plasmática (Fish, D.N., 2001).

- ❖ La administración oral de marbofloxacinina junto con antiácidos o productos lácteos, que contienen cationes divalentes o trivalentes como Mg^{2+} , Al^{3+} y Ca^{2+} , puede formar quelatos e impedir su absorción, motivo por el cual deben administrarse con diferencias de al menos 2 horas. Wise y col. (1999) estudiaron el efecto de los lácteos sobre la farmacocinética de esta molécula. Utilizaron en su ensayo yogurt y administraron dos dosis de marbofloxacinina, con y sin él. Los resultados obtenidos permitieron concluir que no era necesario cambiar la dosis debido a que, si bien la presencia de yogurt elevó el valor de $t_{máx}$ y disminuyó la $C_{máx}$ en un 15 %, no hubo modificaciones en el AUC, por lo que la cantidad de moléculas disponibles para actuar frente a los microorganismos se mantenía constante.

II.2.5.7.2.- Interacciones farmacocinéticas

- Interacciones a nivel de la absorción: es importante destacar la disminución que se ha referenciado tanto en la cantidad de fluoroquinolonas disponible para las bacterias como en la disminución de la absorción gastrointestinal que se manifiesta, cuando, por vía oral, se administran quinolonas junto a antiácidos que contengan magnesio y aluminio, así como con el sulcrafato, suplementos minerales o alimentos que presenten cationes multivalentes como hierro, calcio y zinc. La administración de polivitamínicos disminuye de la misma manera la absorción de las fluoroquinolonas (Fish, D.N., 2001).

Para evitar estos sucesos, las administraciones de antiácidos, minerales o vitamínicos se deben ofrecer separadas en el tiempo: 2 h. antes o 4-6 h. después de la administración de fluoroquinolonas (Polk, R., 1989).

- Interacciones a nivel del metabolismo: algunas fluoroquinolonas, y entre ellas las más estudiadas han sido la enrofloxacinina, ciprofloxacina y danofloxacina, inhiben el P450, CYP1A1 y CYP1A2; éstas son enzimas hepáticas que tienen una participación fundamental en el aclaramiento de las xantinas (teofilina y cafeína), fenacetina, fenitoína, fenotiazinas, opiáceos y warfarina o digoxina (Marchbanks, C., 1993).

Por otra parte, hay estudios que informan sobre otros antimicrobianos como la rifampicina, que incrementan el metabolismo de la grepafloxacin ya que actúa como inductor enzimático, impidiendo que se llegue a niveles terapéuticos (Fish, D.N., 2001).

- ❖ También se ha observado que la administración conjunta de marbofloxacin junto con dexametasona no produjo cambios significativos en los parámetros farmacocinéticos de la marbofloxacin (Aguilar Sola, M., 2009). Si bien en otros estudios la administración conjunta con ketoprofeno, flunixin meglumina, o dexametasona indujo modificaciones en los parámetros farmacocinéticos de la marbofloxacin. El mayor cambio se produjo con dexametasona (Baroni y col., 2011), observando un incremento en las concentraciones séricas de marbofloxacin en contraste con lo observado por Ogino y col. (2005).

- Interacciones a nivel de la excreción: estudios realizados con la ciprofloxacin y norfloxacin han demostrado que disminuyen el aclaramiento plasmático y, con ello, aumentan la concentración plasmática de otros fármacos como la antipirina y la ciclosporina (Fish, D.N., 2001).

A su vez, otros agentes terapéuticos como la furosemida, el probenecid y la cimetidina, disminuyen el aclaramiento renal para las fluoroquinolonas que se eliminan principalmente por esta vía, debido a que inhiben la secreción tubular renal (Aminimanizani y col., 2001).

II.2.5.8.- Evaluación medioambiental

El anillo de las fluoroquinolonas es muy estable y en los organismos animales presentan un metabolismo parcial, por lo que son eliminadas al ambiente como químicos farmacológicamente activos (Sukul y col., 2009) que se unen muy fuertemente al suelo, principalmente si poseen materia orgánica, presentando escasa movilidad. Nowara y col. (1997) manifiestan que se adsorben fuertemente por interacciones electroestáticas a los suelos con alto contenido en minerales arcillosos. Por su parte, Migliore y col. (2003) estudiaron la fitotoxicidad en la enrofloxacin sobre cultivos, a distintas dosis y durante diferentes días, concluyendo que los efectos adversos aparecen a los 100 µg/L.

Las fluoroquinolonas están definidas como contaminantes “pseudopersistentes” (Hu y col., 2010) ubicuos de importancia emergente, debido a que su persistencia en el ambiente puede desequilibrar los ecosistemas y colaborar al aumento de resistencias que pueden transmitirse a otras bacterias ambientales.

II.2.6.- Farmacocinética

II.2.6.1.- Biodisponibilidad

La absorción oral y biodisponibilidad es amplia en la mayoría de las fluoroquinolonas, con diferencias entre las variadas especies animales y dependiente también de la molécula de que se trate (Fitton, A., 1992); son rápidamente absorbidas tras su administración oral en animales con estómago monocavitario (excepto equinos y

prerrumiantes) (Martínez y col., 2006). Por ejemplo la enrofloxacin, tras la administración oral tiene una biodisponibilidad de alrededor del 80% en varias especies de monogástricos (Nielsen y Gyrd-Hansen 1997; Zeng y Fung, 1997; Knoll y col., 1999; Cester y col., 1996; Monlouis y col., 1997), mientras que en los rumiantes no supera el 10 % (Vancutsem y col., 1990).

La magnitud de absorción de las quinolonas se debe fundamentalmente a su carácter liposoluble que facilita su difusión pasiva, aunque también la absorción se realiza a través de transportadores (Griffiths, N., 1994; Rabbaa y col., 1997). La disolución del fármaco debe ser completa para que los segmentos intestinales proximales (duodeno y en mucha menor parte yeyuno) puedan absorberlo completamente. Puede ocurrir también una saturación de los transportadores y se dará inicio a un proceso de competición por otras moléculas (Griffiths, N., 1994). En general, se observa un incremento lineal en la concentración plasmática si se incrementa la dosis oral.

Se han realizado estudios tras la administración oral en diferentes especies animales utilizando distintas fluoroquinolonas.

Tabla II.11.- Concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$), Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$) y biodisponibilidad (F) oral, de distintas quinolonas, en especies rumiantes y de la familia *Camelidae*

Quinolona	Especie	$C_{m\acute{a}x}$ ($\mu\text{g/ml}$)	$T_{m\acute{a}x}$ (h)	F (%)	Autor
Danofloxacin	Terneros	Bajo el límite de cuantificación			Mann y Frame, 1992 ²
Norfloxacin	Ovejas	1,53	10,20	4,04	González y col., 1997 ³
	Corderos	3,47	5,53	73,51	
	Cabras	2,77	4	14,60	Gandolf y col., 2005 ³
Enrofloxacin	Ovejas	2,26	8	94,60	Bermingham y Papich, 2002 ³
	Alpacas	1,42	4	29,44	Gandolf y col., 2005 ³
	Llamas	0,76	1,13	32,50	Kreil y col., 2001 ¹
	Camellos	0,7-1,7	6,29-10,43	x	Harron y col., 1997 ¹

Dosis: ¹ 2,5 mg/kg; ² 5 mg/kg; ³ 10 mg/kg

También la biodisponibilidad parenteral es variable en relación con la especie de que se trate y el tipo de fármaco utilizado.

Así, la vía intramuscular ha demostrado ser eficaz para la gran mayoría de fluoroquinolonas en las distintas especies, pues puede alcanzar una biodisponibilidad de hasta el 75%-100% (Dowling y col., 1995; Giguere y col. 1996; Haines y col., 2000), con excepción de burros (norfloxacin 31%, Lavy y col., 1995) y caballos (norfloxacin 47,81%, Park y col., 1994). Algunas son más lentas para absorberse y, en general, se acompañan de una semivida de eliminación más lenta, esto puede deberse a la unión del fármaco a los tejidos. La vía subcutánea también ofrece una buena biodisponibilidad.

Tabla II.12.- Concentración máxima (C_{\max}), Tiempo máximo (T_{\max}) y biodisponibilidad (F) parenteral, de distintas quinolonas, en especies rumiantes (5mg/kg)

Quinolona	Vía	Especie	C_{\max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{\max} (h)	F (%)	Autor
Danofloxacin	IM	vacas	x	x	91-125	Shem-Tov y col., 1997, 1998; Apley y Upson, 1993; Giles y col., 1991;
		terneros	x	x	94	Gips y Soback, 1996
	SC	vacas	0,23-0,24	1,25	91-125	McKellar y col., 1999 ¹
Ciprofloxacina	IM	cabras	1,92	x	95,9	El Banna y El Sooud, 1998
		ovejas	x	0,53	49	Muñoz y col., 1996 ²
Difloxacina	IM	cabras	4,1	x	95,4	Atef y col., 2002
		cabritos	4,95	1,85	97,5	Goudah y Mouneir, 2008
		ovejas	1,89	2,42	99,92	Marín y col., 2007
		corderos	4,25	1,31	97,1	Goudah y Mouneir, 2008
	SC	ovejas	1,39	5,33	82,35	Marín y col., 2007
Moxifloxacina	IM	ovejas	1,66	2,25	96,12	Cárceles y col., 2009
	SC		0,90	3,25	102,20	
Norfloxacina	IM	ovejas	3,29	1,95	x	González y col., 2001 ³
Dosis: ¹ 1,25 mg/kg; ² 7,5 mg/kg; ³ 10 mg/kg						

II.2.6.1.1.- Biodisponibilidad en Camélidos

En cuanto a las vías parenterales, IM y SC, en estas especies, han demostrado ser eficaces y con buena biodisponibilidad, incluso a dosis bajas como es el caso de la moxifloxacina en camellos.

Tabla II.13.- Concentración máxima (C_{\max}), Tiempo máximo (T_{\max}) y biodisponibilidad (F) parenteral, de distintas quinolonas, en especies de la familia *Camelidae* (5mg/kg)

Quinolona	Vía	Especie	C_{\max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{\max} (h)	F (%)	Autor
Difloxacina	IM	Dromedarios	2,84	1,42	93,51	Abo-El-Sooud y Goudah, 2009
	SC	Dromedarios	2,1	4,0	94,6	Al-Taher, 2014
Danofloxacin	IM	Camellos	0,49	0,70	114,50	Aliabadi y col., 2003 ¹
Moxifloxacina	IM	Dromedarios	2,16	1,04	82,10	Abd el-Aty y col., 2007
Enrofloxacina	IM	Llamas	3,78	2,17	94,07	Rubio, S., 2011
	IM	Llamas	3,72	1,4	107,2	Kreil y col., 2001 ³
	SC	Llamas	3,26	2,50	88,31	Rubio, S., 2011
	SC	Alpacas	4,16	6,0	90,18	Gandolf y col., 2005
	SC	Camellos	1,23	1	92	Gavrielli y col., 1995 ²
Dosis: ¹ 1,25 mg/kg; ² 2,5 mg/kg; ³ 10 mg/kg						

II.2.6.1.2.- Biodisponibilidad de la marbofloxacin

Biodisponibilidad parenteral: presenta también una elevada biodisponibilidad tras la administración IM y SC, demostrando tener un buen grado de penetración tisular pues alcanza concentraciones plasmáticas rápidas y elevadas (Lai y col., 2009).

Tabla II.14.- Valores de Concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$), Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$) y biodisponibilidad (F) de marbofloxacin en distintas especies (dosis 5mg/kg)

Especie	Vía	$C_{m\acute{a}x}$	$T_{m\acute{a}x}$ (h)	F (%)	Autor
Pavo	Oral	0,67	6,0	84,37	Haritova y col., 2006
Equinos	SC	1,07	0,72	97,6	Bousquet Melou y col., 2002 ¹
	Oral	0,89	0,58	62,4	
Búfalo	IM	1,55	0,5	86,79	Goudah y Mouneir, 2008 ¹
	SC	0,82	0,65	x	Baroni y col., 2014 ¹
Cabra	IM	1,87	0,9	100,74	Waxman y col., 2001 ¹
	SC	1,76	1,1	x	
Vacas	IM	1,618	0,69	x	Schneider y col., 2004
	Oral	1,173	0,778	x	Díaz, D., 2012 ¹
Dromedario	IM	2,5	1,0	x	Laraje y col., 2006 ¹
	IM	4,55	0,9	71,95	Laraje y col., 2006 ²
Llamas	IM	7,73	1,17	107,27	Rubio-Langre y col., 2012
	SC	6,94	1,83	118,48	

¹ 2 mg/kg; ²4mg/kg

Tabla II.15.- Valores de Concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$), Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$) y biodisponibilidad (F) de marbofloxacin en distintas especies y su relación con la edad

Especie	Vía	Días de edad	$C_{m\acute{a}x}$	$T_{m\acute{a}x}$ (h)	F (%)	Autor
Terneros	Oral	neonatales	0,772	6,7	x	Díaz, D., 2012 ¹
	Oral	10	0,482	7,2	x	
	Oral	50	0,162	8,4	x	
	Oral	50	0,557	7,2	x	Díaz, D., 2012 ³
	IM	215	1,504	0,51	104,17	Aliabadi y Lees, 2002 ³
	IM	300	1,4	x	x	Ismail y El-Kattan, 2007 ¹
Bucerros	IM	7-10	1,11	0,78	103,29	Lüders, C., 2014 ¹ ; Baroni y col., 2014 ¹
	SC	7-10	1,17	0,62	128,11	
	Oral	2-3	0,36	12,00	84,79	
		7-10	0,20	7,20	47,04	
		20-21	0,13	9,25	48,72	
		50	0,11	11,50	42,67	
Cerdos	IM	84	5,55	0,93	89,6	Schneider y col., 2014 ⁴
		112	5,86	1,15	105	Schneider y col., 2014 ²
		189	3,38	1,18	90,0	
			6,30	0,95	91,5	
			15,5	1,06	90,1	

¹2mg/kg; ²4mg/kg; ³5mg/kg; ⁴8mg/kg; ⁵16mg/kg

II.2.6.2.- Distribución

La fracción libre de un fármaco, pasa de la sangre a los tejidos donde ejerce su acción antimicrobiana. De ahí la importancia de conocer el volumen de fracción libre al evaluar la dosis apropiada del fármaco a administrar, según las características farmacocinéticas y farmacodinámicas del mismo; también es necesario tener en cuenta las barreras que debe atravesar el antimicrobiano antes de llegar al agente infeccioso y la capacidad de la bacteria para eludir el efecto del fármaco (Costerton y col., 1999; Toutain y col., 2002).

En el caso de las fluoroquinolonas, se destaca su amplia capacidad de distribución, superior a 1.0 L/kg (Aminimanizani y col., 2001; Lode, H., 1998). Ello se correlaciona, en buena medida, con una baja unión a proteínas plasmáticas (10-60 %), uniéndose principalmente, a las albúminas (Okezaki y col., 1989). Por otra parte, es importante destacar que los volúmenes corporales están compartimentalizados, distribuyéndose, como norma general, 0,05 L/kg para el plasma, 0,2 L/kg para los fluidos extracelulares y 0,7 L/kg para el agua corporal (Wamberg, S., 2002). El hecho de que existan más de 0,7 L/kg del fármaco administrado, no significa que esté disponible para actuar frente a las bacterias, pues podría estar secuestrado en el interior de las células, o en los denominados compartimentos profundos, pero, en general, se considera que fármaco libre es indicativo de fármaco disponible para cumplir su función antibacteriana.

Las diferencias en los porcentajes de unión se deben a dos factores: por un lado a la variedad en la estructura química de las distintas quinolonas, y por otra parte, a la especie animal y su edad. Así, la interacción con proteínas del plasma se relacionaría con la presencia del heterociclo en posición 7 y los distintos sustituyentes en posición 8 (Zlotos y col., 1998). Algunas investigaciones (Okezaki y col., 1989; Zlotos y col., 1998) han determinado diferencias en porcentajes, entre 20-30 % y 70-80 % según se presente un sustituyente de mayor o menor tamaño en C7 de un grupo piperacínico.

Tabla II.16.- Tasas de unión a proteínas plasmáticas en especies rumiantes y camélidos.

Fluoroquinolonas	Especie animal	Tasa de unión (%)	Autor
Ciprofloxacina	Vacas	18-30	Bidgood y Papich, 2005
	Vacas	10-49	Aliabadi y col., 2003
Danofloxacina	Terneros	20-30	Bregante y col., 2000
	Cabras	13	Atef y col., 2002
Difloxacina	Vacas	32-37	Cox, S., 2007
	Corderos	12	Goudah y Mouneir, 2008
	Dromedarios	28-43	Abo-El-Sooud y Goudah, 2009
	Cabritos	10	Goudah y Mouneir, 2008
	Cabras	13-14	Cox, S., 2007
Moxifloxacina	Camellos	60-93	Abd El-Aty y col., 2007
Orbifloxacina	Vacas	30	Bregante y col., 2000
Norfloxacina	Vacas	20	Gips y Soback., 1999
Enrofloxacina	Vacas	46-49	Bregante y col., 2000
	Ovejas	22-45	Rahal y col., 2006

La mayoría de los porcentajes indicados en la tabla II.16 revelan la baja unión a proteínas plasmáticas. Se observan algunas excepciones, como el caso de la moxifloxacina en camellos, que presenta una unión a proteínas plasmáticas del 93 %.

La amplitud del volumen de distribución que mencionáramos anteriormente, se ve reflejado en la tabla II.10. Como consecuencia a ello, las fluoroquinolonas alcanzan elevados niveles de concentración en tejido renal, hepático, genital y bronquial (Brown, S., 1996). Según Giles y col., (1991), en concentraciones pulmonares registradas en vacas, el pico de concentración es 4,1 veces mayor y el AUC es 3,7 veces mayor a las registradas a nivel plasmático. Por otra parte, las fluoroquinolonas llegan a las cámaras oculares y atraviesan las barreras placentaria, también se distribuyen en piel, hueso, próstata, líquido prostático, saliva y secreciones bronquiales y nasales (Aramayona y col., 1996; Brown, S.A., 1996; Friss, C., 1993).

Las concentraciones encontradas en leche (vaca, oveja y coneja) (Aramayona y col., 1996, Shem-Tov y col., 1997; Soback y col., 1994) de diferentes quinolonas (enrofloxacin, ciprofloxacina, danofloxacina) son superiores a las registradas en plasma, si bien debido a los procesos de distribución el $T_{m\acute{a}x}$ es superior en este emuntorio.

Por último, cabe destacar que las quinolonas se concentran en células fagocíticas (macrófagos alveolares, neutrófilos), es decir, podrían ser eficaces frente a microorganismos intracelulares (Brown, S.A., 1996).

Tabla II.17.- Volumen de distribución (Vd), de distintas quinolonas, en ruminantes (5 mg/kg)

Fluoroquinolonas	Vía	Especie animal	Vd(L/kg)	Autor
Ciprofloxacina	IV	vacas	2,5	Cox y col., 2004
		ovejas	1,9	
		cabras	2,14-3,4	El Banna y El Sooud, 1998; García-Ovando y col., 2000 ⁴
Danofloxacina	IV	vacas	2,04	Shem-Tov y col., 1998
		ovejas	2,8	Cox, SK., 2007
		cabras	1,4-3	Cox, S., 2007
		búfalos	3,98	Sappal y col., 2009 ¹
Difloxacina	IV	cabras	0,48-1,1	Atef y col., 2002; Goudah y Mouneir, 2008
		ovejas	0,49-1,68	Marín y col., 2007; Goudah y Mouneir, 2008
Moxifloxacina	IV	ovejas	1,05-2,03	González y col., 1997; Cárceles y col., 2009
	IV	cabras	0,80-1,94	Rao y col., 2002 ² ; Elmas y col., 2001; Elsheikh y col., 2002; Gandolf y col., 2005
Enrofloxacin	IV	ovejas	0,97-3,02	Bregante y col., 1999; Haritova y col., 2003; Mengozzi y col., 1996 ² ; Rahal y col., 2006; Bermingham y Papich., 2002; Elsheikh y col., 2002
	IV	vacas	0,44-1,56	Idowu y col., 2010; Varma y col., 2003; Kaartinen y col., 1995 ; Bregante y col., 1999; Cox y col., 2004 ²
	IV	terneros	1,81-2,28	Idowu y col., 2010; Kaartinen y col., 1995 ²
	SC	cabras	2,48	Ramesh y col., 2002 ³

Dosis: ¹ 1,25 mg/kg; ² 2,5 mg/kg; ³ 7,5 mg/kg; ⁴ 10mg/kg

II.2.6.2.1.- Distribución en Camélidos

El volumen de distribución de las fluoroquinolonas en especies de la familia *Camelidae* es también amplio, y, si bien, estas especies pueden disminuir el porcentaje de agua corporal en algunas estaciones del año, se espera que esa situación tenga poco efecto sobre la cinética de los fármacos debido al alto volumen de distribución (Abd El-Aty y col., 2007).

Tabla II.18.- Volumen de distribución (Vd), de distintas quinolonas, en especies de la familia *Camelidae* (5 mg/kg)

Quinolona	Vía	Especie	Vd (L/kg)	Autor
Danofloxacina	IV	camellos	2,53	Aliabadi y col., 2003 ¹
Difloxacina	IV	dromedarios	1,02	Abo-El-Sooud y Goudah, 2009
Moxifloxacina	IV	camellos	1,78	Abd El-Aty y col., 2007
Enrofloxacina	IV	llamas	0,64-4,0	Christensen y col., 1996; Kreil y col., 2001 ¹⁰ ; Rubio, S., 2011
	IM	llamas	0,87-3,6	Rubio, S., 2011; Kreil y col., 2001 ²
	SC	llamas	0,75	Rubio, S., 2011
	IV	alpacas	0,44	Gandolf y col., 2005
	IV	camellos	1,13	Gavrielli y col., 1995; Harron y col., 1997

Dosis: ¹1,25 mg/kg; ² 10mg/kg

II.2.6.2.2.- Distribución de la marbofloxacina

La molécula de marbofloxacina difunde rápidamente a los espacios extravasculares, tiene un volumen de distribución elevado y logra una buena penetración en los tejidos y fluidos corporales.

Esta amplia distribución se correlaciona con la baja unión a proteínas plasmáticas.

Tabla II.19.- Tasa de unión a proteínas plasmáticas de la marbofloxacina en diferentes especies animales

Especie	Tasa de unión (%)	Autor
Búfalos	22-24	Goudah y Mouneir, 2008
Vacas	30	Aliabadi y Lees, 2002
Perros	10-25	Regnier y col., 2003; Frazier y col., 2000; Bregante y col., 2000
Cerdos	18,4	Petracca y col., 1993.

Tabla II.20.- Volumen de distribución (Vd) de marbofloxacina en diferentes especies, en animales adultos.

Especie	Vía	Vd L/kg	Autor
Conejo	IV	1,99	Marín y col., 2013 ¹
Caballo	IV	1,17	Carretero y col., 2002 ¹
Perro	IV	1,36	Schneider y col., 1996 ¹
Pavo	IV	1,41	Haritova y col., 2006 ¹
Búfalo	IV	1,77	Goudah y Mouneir, 2008 ¹
Buitre	IO	1,51	García-Montijano y col., 2011 ¹
Avestruz	IV	2,5	De Lucas y col., 2004 ²
Vacas	IM	1,03	Schneider y col., 2004 ¹
Ovejas	IV	1,96	Sidhu y col., 2010 ¹
Ovejas	IM	2,20	
Llamas	IV	0,75	Rubio-Langre y col., 2012 ²
Cabras	IV	1,31	Waxman y col., 2001 ¹
Cabras	IV	0,52	Fernández-Palacios, R., 2014 ¹
Pollos	Oral	0,77	Tafur Garzón, M.A., 2000 ¹

¹2mg/kg; ²5 mg/kg

Tabla II.21.- Volumen de distribución (Vd) de marbofloxacina en distintas especies y su relación con la edad

Especie	Vía	Días de edad	Vd L/kg	Autor	
Cabritos	IV	7	0,92	Waxman y col., 2004 ¹	
		21	0,95		
		42	1,00		
Terberos	IV	300	1,1	Ismail y El-Kattan, 2007 ¹	
	IV	neonatales	1,113	Díaz, D., 2012 ¹	
	Oral	neonatales	2,037		
	IV	10	1,110		
	Oral	10	4,307		
	IV	50	1,189		
	Oral	50	11,016		
Bucerros	IV	Oral	50	5,917	Díaz, D., 2012 ²
		10	1,59	Sarmiento y col., 2007 ¹	
		2-3	1,77	Lüders, C., 2014 ¹ ; Baroni y col., 2014 ¹	
		7-10	1,70		
		20-21	2,00		
50	2,45				
Cerdos	IV	84	1,58	Schneider y col., 2014 ³	
		112	1,75		
		189	1,58		

¹2mg/kg; ²5mg/kg; ³8mg/kg

II.2.6.3.- Eliminación: metabolismo y excreción

Las quinolonas son fármacos que pueden ser eliminados mayoritariamente mediante:

- **Metabolismo hepático:** mientras la ofloxacin se metaboliza escasamente y se excreta por orina en su estructura original, la perfloxacin se metaboliza a norfloxacin (Brown, S.A, 1996; Vancutsem y col., 1990). Las transformaciones de estos fármacos incluyen la glucuroconjugación (moxifloxacin, grepafloxacin, cinafloxacin y esparfloxacin), la N-oxidación y la desmetilación (levofloxacin), y se llevan a cabo principalmente por el sistema del citocromo P450 (Bergogne-Bérézin, E., 2002).
- **Excreción:** renal (orifloxacin, ofloxacin, temafloxacin, lomefloxacin), o hepática por vía biliar (difloxacin y perfloxacin), o ambas enrofloxacin, marbofloxacin, danofloxacin, norfloxacin y ciprofloxacin

En el caso de la excreción renal, ésta puede tener lugar por filtración glomerular o por secreción tubular activa. La reabsorción tubular es un fenómeno que depende de la composición físico-química de cada quinolona; así, en los compuestos menos polares, como la perfloxacin o la difloxacin, la escasa fracción que llega a riñón se reabsorbe ampliamente con lo que la semivida de eliminación es más prolongada. Por el contrario, compuestos más polares como la norfloxacin, ciprofloxacin y enofloxacin, presentan semivida más corta debido a valores más altos de aclaramiento renal (Fitton, A., 1992). Por su parte, los derivados N4 metilados, serían los más susceptibles de reabsorción debido a su mayor lipofilia (Sörgel y Kinzig 1993).

La semivida de eliminación varía, en función del tipo de quinolona, especie animal y, en algunos casos, de la dosis administrada. El menor valor se observa en cabras tras la administración IV de norfloxacin ($t_{1/2\lambda} = 0,25$ h) (Jha y col., 1996), y el valor más elevado en ovejas, 13,89 h tras la administración IM de difloxacin (Marín y col., 2007).

El aclaramiento plasmático, por su parte, fluctúa entre 0,11 L/kg.h, en corderos tras la administración IV de difloxacin a dosis de 5mg/kg (Goudah y Mouneir, 2008) y de 1,17 L/kg.h registrado para ciprofloxacin IV, al doble de dosis de la anterior (García-Ovando y col., 2000).

Por último, cabe agregar que el tiempo medio de residencia (MRT) de las fluoroquinolonas en el organismo puede variar en función de factores como la secreción activa a través de la membrana intestinal, la secreción biliar y el establecimiento del ciclo enterohepático (Carpenter y col., 2006). El rumiantes este valor oscila entre 3,33 h y 15,83 h para difloxacin administrada vía IM en ovejas (Marín y col., 2007).

Tabla II.22.- Semivida de eliminación ($t_{1/2}$), Aclaramiento plasmático (Cl) y Tiempo medio de residencia (MRT), de distintas quinolonas, en especies rumiantes (5 mg/kg)

Quinolona	Vía	Especie	$t_{1/2\lambda}$ (h)	Cl(L/kg·h)	MRT(h)	Autor
Ciprofloxacina	IV	vacas	2,4	0,73	x	Cox y col., 2004
		terneros	3,54	x	x	Raina y col., 2000
		ovejas	1,2	1,8	x	Cox y col., 2004
		cabras	2,72-2,78	0,86-1,17	3,33	El Banna y El Sooud,1998; García-Ovando y col., 2000 ⁴
	IM	ovejas	3,06	x	x	Muñoz y col., 1996
Danofloxacina	IV	ovejas	3,4	0,63	x	Cox, S., 2007
		cabras	4,7	0,57	x	Cox, S., 2007
		búfalos	4,24	0,71	8,64	Sappal y col., 2009 ¹
Difloxacina	IV	ovejas	11,43	0,21	8,07	Marin y col., 2007
		corderos	2,63	0,11	3,66	Goudah y Mouneir, 2008
		cabras	6,3	0,13	x	Atef y col., 2002
		cabritos	3,57	0,12	5,12	Goudah y Mouneir, 2008
	IM	ovejas	13,89	x	15,83	Marin y col., 2007
		corderos	6,14	x	9,24	Goudah y Mouneir, 2008
		cabritos	6,85	x	10,45	Goudah y Mouneir, 2008
SC	ovejas	12,02	x	12,62	Marin y col., 2007	
Moxifloxacina	IV	ovejas	5,19	0,39	5,17	Cárceles y col., 2009
	IM	ovejas	5,05	x	7,05	Cárceles y col., 2009
	SC	ovejas	7,42	x	13,68	Cárceles y col., 2009
Norfloxacina	IV	ovejas	6,02	x	13,04	Soback y col., 1994; González y col., 2001 ⁴
		cabras	0,25	x	x	Jha y col., 1996
	IM	ovejas	x	x	12,38	González y col., 2001 ⁴
Enrofloxacina	IV	vacas	5,9	x	7,98	Kaartinen y col., 1995
		terneros	4,87-6,61	0,19-0,7	2,27-10,32	Idowu y col., 2010; Kaartinen y col., 1995 ²
		oveja	3,65-3,87	0,62	4,52-5,23	Haritova y col., 2003; Elsheikh y col., 2002; Mengozzi y col.,1996 ²
		cabras	0,73-13,3	0,19-1,33	0,97-5,75	Elmas y col., 2001; Elsheikh y col., 2002; Rao y col., 2001 ² ; Gandolf y col., 2005
		búfalos	2,87	1,67	3,89	Sharma y col., 2003
	SC	vacas	2,34-5,55	x	3,24-8,4	De Lucas y col., 2008; Kaartinen y col., 1995; McKellar y col.,1999 ²
		terneros	6,79	x	x	Davis y col., 2007 ⁵
		ovejas	7,12	x	11,23	Rahal y col., 2006
		cabras	2,84	0,45	5,74	Ramesh y col., 2002 ³

Dosis: ¹ 1,25 mg/kg; ² 2,5mg/kg; ³ 7,5mg/kg; ⁴ 10mg/kg; ⁵ 12,5mg/kg

II.2.6.3.1.- Eliminación: metabolismo y excreción en Camélidos

El menor tiempo registrado para la semivida de eliminación de las fluoroquinolonas en estas especies es de 2,07 h para moxifloxacina en camellos (Abd El-Aty y col., 2007), siendo el mayor de 16,69 h para enrofloxacina en esta misma especie (Harron y col., 1997), ambas administradas por vía IM.

El aclaramiento plasmático, tras la administración IV fue de 0,24 L/kg.h para difloxacin en dromedarios (Abo-El-Sooud y Goudah, 2009), de 0,44 L/kg.h para danofloxacin en camellos administrando una dosis de 1,25 mg/kg (Aliabadi y col., 2003).

El tiempo medio de residencia varía también en función de la quinolona administrada, siendo sus registros muy similares a lo observado en rumiantes.

Tabla II.23.- Semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$), Aclaramiento plasmático (Cl) y Tiempo medio de residencia (MRT), de distintas quinolonas, en especies de la familia *Camelidae* (5mg/kg)

Quinolona	Vía	Especie	$t_{1/2\lambda}$ (h)	Cl (L/kg.h)	MRT (h)	Autor
Difloxacin	IV	dromedarios	2,97	0,24	4,11	Abo-El-Sooud y Goudah, 2009
	IM	dromedarios	3,46	x	5,61	
Danofloxacin	IV	camellos	5,37	0,44	5,82	Aliabadi y col., 2003 ¹
	IM	camellos	5,71	x	x	
Moxifloxacin	IV	camellos	1,87	0,34	5,77	Abd El-Aty y col., 2007
	IM	camellos	2,07	x	7,29	
Enrofloxacin	IV	camellos	3,36-11,85	0,28	4,35	Gavrielli y col., 1995; Harron y col., 1997; Harron y col., 1997 ² ; Harron y col., 1997 ¹
		llamas	3,38-3,94	0,70-0,75	4,95-5,04	Christensen y col., 1996; Kreil y col., 2001 ³
		alpacas	13,04	0,084	4,85	Gandolf y col., 2005
	IV	Llamas	4,08	0,11	4,87	Rubio, S., 2011
	IM	camellos	3,36-16,69	x	x	Gavrielli y col., 1995; Harron y col., 1997; Harron y col., 1997 ²
	IM	Llamas	5,04	0,12	7,57	Rubio, S., 2011
	IM	llamas	6,91	0,33	11,43	Kreil y col., 2001 ³
	SC	Llamas	4,09	0,13	7,56	Rubio, S., 2011

Dosis: ¹ 1,25 mg/kg; ² 2,5 mg/kg; ³ 10 mg/kg

Una característica anátomo fisiológicas de los CSA es que carecen de vesícula biliar, y el conducto biliar del hígado abre en el duodeno, por lo que la bilis fluye libremente al contenido intestinal (Fowler, M.E., 1989), por lo que aquellas quinolonas que sean excretadas por este sistema podrían presentar algunas modificaciones en comparación con animales que poseen vesícula biliar, y modificar los fenómenos de circulación entero hepática.

II.2.6.3.2.- Eliminación: metabolismo y excreción de la marbofloxacin

En el 2006, Carpenter y col. demostraron que para marbofloxacin, la metabolización hepática es mínima (10-15% de la dosis administrada) y la eliminación es un 40 % por orina y el resto es vía biliar. Según Schneider y col. (2014) en orina se han detectado dos metabolitos provenientes de la metabolización de esta molécula: N-oxido-marbofloxacin y la desmetil-marbofloxacin.

Se conoce que la marbofloxacin tiene un tiempo de eliminación prolongado en todas las especies estudiadas, menos en rumiantes y aves (avestruces, de Lucas y col, 2005). En el caso de las llamas y camellos, se han obtenido valores de 6,25 y 9,16 h respectivamente (Rubio-Langre y col., 2012; Laraje y col., 2006).

Los valores de aclaramiento (Cl) son bajos en general, excepto en avestruz, pero esto se correlaciona con la semivida más corta.

Tabla II.24.- Semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$), Aclaramiento plasmático (Cl) y Tiempo medio de residencia (MRT), de marbofloxacina en diferentes especies, en animales adultos (5mg/kg)

Especie	Vía	$t_{1/2\lambda}$ (h)	Cl (L/kg.h)	MRT (h)	Autor
Equinos	IV	7,56	0,249	5,96	Bousquet-Mélou y col., 2002 ¹
	SC	10,41	X	8,66	
	Oral	8,78	X	8,97	
Cabra	IV	7,18	0,23	5,06	Waxman y col., 2004 ¹
Terneros	IM	4,7	0,18	7,4	Ismail y El-Kattan, 2007 ¹
Cerdo	IV	7.94	0,12	x	Ding y col., 2010 ²
	IM	17,3	0,12	x	
	PO	23,14	0,12	x	
Pavo	IV	7,37	0,16	9,04	Haritova y col., 2006 ¹
	Oral	7,73	x	14,01	
Tortuga	IV	14,96	0,016	21,55	Lai y col., 2009 ¹
	IM	19,03	x	28,2	
	Oral	13,33	x	22,59	
Pollos	IV	5,26	0,17	4,36	Tafur Garzón, M., 2000 ¹
	Oral	9,03	x	8,55	
Guacamayo	IV	4,3	0,29	5,0	Carpenter y col., 2006 ²
	Oral	3,9	x	6,7	
Buitre	IO	4,91	0,11	5,38	García-Montijano y col., 2010 ¹
Avestruz	IV	1,47	2,19	1,46	de Lucas y col., 2005 ⁴
Avestruz	IM	1,96	x	2,11	
Llamas	IV	9,16	0,09	8,28	Rubio-Langre y col., 2012 ⁴
	IM	8,47	x	8,76	
	SC	6,25	x	9,02	
Camellos	IM	7,16	x	8,90	Laraje y col., 2006 ¹
	IM	7,98	x	7,78	Laraje y col., 2006 ³
Búfalos	SC	5,71	x	7,21	Baroni y col., 2014 ¹
		8,77	x	9,93	Baroni y col., 2014 ⁴
		7,37	x	7,59	Baroni y col., 2014 ⁴

¹2mg/kg; ² 2,5mg; ³4mg/kg; ⁴ 5 mg/kg; ⁵ 8mg/kg; ⁶16mg/kg

Tabla II.25.- Semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$), Aclaramiento plasmático (Cl) y Tiempo medio de residencia (MRT) de marbofloxacina en distintas especies y su relación con la edad

Especie	Vía	Días de edad	$t_{1/2\lambda}$ (h)	Cl (L/kg.h)	MRT (h)	Autor
Cabritos	IV	7	9,66	0,08	11,86	Waxman y col., 2004 ¹
		21	8,25	0,097	9,63	
		42	6,44	0,18	5,76	
Terneros	IV	210-250	4,23	0,21	5,33	Shojaee Aliabadi y Lees, 2000 ¹
	IV	300	4,6	0,03	6,1	Ismail y El-Kattan, 2007 ¹
	IM	300	4,7	x	7,4	
	IV	neonatal	12,22	0,080	17,13	Díaz, D., 2012 ¹
	Oral	neonatal	12,05	0,123	20,38	
	IV	10	8,96	0,097	11,50	
	Oral	10	17,68	0,169	26,32	
	IV	50	3,21	0,283	4,23	
	Oral	50	18,46	0,410	29,65	Díaz, D., 2012 ³
	Oral	50	14,482	0,354	29,39	
Bucerros	IV	10	0,15	0,28	0,68	Sarmiento y col., 2007 ¹
	IV	2-3	8,39	0,17	11,54	Lüders, C., 2014 ¹
		7-10	5,27	0,25	7,97	
		20-21	6,33	0,22	9,04	
		50	6,72	0,28	8,81	
	IM	7-10	5,75	x	8,88	Lüders, C., 2014 ¹
	SC	7-10	6,20	x	8,83	
	Oral	2-3	21,57	x	35,45	
		7-10	18,76	x	30,16	
		20-21	40,65	x	62,98	
50		34,94	x	53,55		
Cerdos	IV	82	13,5	x	x	Schneider y col., 2014 ⁴
	IM	82	13,2	x	x	
	IV	112	18,0	0,041	x	
	IM	112	16,7	x	x	
	IV	189	18,4	0,065	x	Schneider y col., 2014 ²
	IM		15,4	x	x	
			15,1	x	x	Schneider y col., 2014 ⁴
			15,2	x	x	Schneider y col., 2014 ⁵

¹2mg/kg; ²4mg/kg; ³ 5mg/kg; ⁴ 8mg/kg; ⁵ 16mg/kg

II.2.7.- Influencia de la edad animal en la disposición farmacocinética de los fármacos

Al observar la acción de los fármacos en el organismo, se debe prestar atención a las diferencias que presentan diversos factores dependientes de la edad de quien recibe el medicamento. Algunos de los factores que presentan variaciones en relación con la edad son:

- El agua corporal, más abundante en los recién nacidos que en los adultos: 70-80% del peso corporal en los neonatos, frente un 60%, aproximadamente, en la edad adulta. En consecuencia, la distribución de fármacos hidrosolubles se realizaría en forma diversa, con mayor volumen de distribución en los neonatos (Baggot, J.D., 2001). En cuanto a la proporción de agua frente a grasa corporal, en los neonatos predomina la primera, frente a la segunda; en consecuencia, los compuestos hidrosolubles (penicilinas, aminoglucósidos y antiinflamatorios no esteroideos) alcanzarían mayor poder de distribución (Reiche, R., 1982).

- Vía de administración: al administrar un fármaco se ha de tener en cuenta que a partir del gradiente de concentración existente en el punto de administración, se han observado diferencias en la absorción de la molécula, relacionadas tanto con el tipo de aplicación (oral, IM, IV) como con las barreras estructurales que el fármaco debe atravesar. A ello se agrega el hecho de que la administración vía oral incrementa la biodisponibilidad sistémica de los antimicrobianos, mientras que la eliminación es más lenta, sobre todo si está involucrado el metabolismo hepático (Baggot, J.D., 2001). Por el contrario, tras la administración intramuscular, el flujo sanguíneo regional incide en la distribución del fármaco; existe una relación inversa entre peso corporal y concentración antibiótica. En animales jóvenes se produce alta concentración, seguida de rápido descenso, mientras que en animales adultos, la concentración sérica es baja y relativamente constante (Baggot, J.D., 2001). La vía intramuscular favorece la absorción de fármacos por su menor contenido lipídico, pero también puede dificultarse debido a una menor masa muscular (superficie de absorción), menor irrigación y menor actividad muscular. De allí la diferente capacidad de absorción entre neonatos y adultos.

- Otro factor relacionado con la capacidad de absorción de los fármacos en los neonatos es el desarrollo de la motilidad gastrointestinal, que varía según las especies animales, y que puede ser muy básica (terneros) o desarrollada (corderos). Ello incide en el tránsito de los fármacos administrados por vía oral. Por otra parte, con el transcurso de los días de vida, si bien se incrementa la mucosa digestiva y la perfusión sanguínea, lo cual favorecería la absorción de fármacos, también se incrementa la actividad enzimática, que conformaría una barrera contra el acceso del fármaco hacia la circulación sistémica por un efecto de metabolismo de primer paso. En relación a ello, hemos de tener en cuenta que el mecanismo varía en relación con la edad, siendo baja la capacidad oxidativa en neonatos e incrementándose con el transcurso de las semanas de vida (Nouws, J., 1992).

- Desarrollo postnatal del tracto intestinal: se presenta con diferencias debidas, tanto a las diversas especies animales, como al tipo de alimentación (sólo leche, leche y forraje). En consecuencia, la absorción de los fármacos varía. Por ejemplo, en los

bovinos, el pH abomasal se va tornando más ácido, en consonancia con los cambios en la dieta y por ello, fármacos sensibles al medio ácido pueden ser mejor absorbidos en el neonato. En el mismo sentido, en el neonato, es mayor la permeabilidad de la mucosa intestinal y por lo tanto, la biodisponibilidad de fármacos administrados por vía oral. Según Martí, S. (1990), este fenómeno predomina durante las primeras 72 horas de vida, cuando el recién nacido está recibiendo el calostro y su sistema gastrointestinal es permeable a las moléculas grandes, como las inmunoglobulinas.

- Lo mismo ocurre con la funcionalidad renal, incompleta en el momento del nacimiento en la mayoría de los animales, y completa, en las especies rumiantes, entre la primera y segunda semana de vida (Reiche, R., 1982).

- La unión a proteínas plasmáticas presenta variaciones relacionadas tanto con la edad como con la especie animal y con las características de las moléculas. En el recién nacido, la cantidad absoluta de albúmina en plasma es baja y, conforme el animal crece, dicha cantidad se va incrementando. Por lo tanto, en un neonato habrá mayor cantidad de fármaco libre con capacidad de difundir a sitios extravasculares, traduciéndose en un mayor volumen de distribución a edad temprana (Baggot, J.D., 2001). Consiguientemente, la composición corporal así como la unión a proteínas plasmáticas, modifican la distribución de los medicamentos, provocando una mayor fracción de fármaco libre disponible para su distribución, debido a una menor unión a proteínas plasmáticas (Reiche, R., 1982).

- Finalmente, podemos mencionar que el subdesarrollo de la barrera hematoencefálica en el período neonatal temprano permite que los fármacos accedan al líquido cefalorraquídeo (Reiche, R., 1982).

II.2.8.- Integración farmacocinética-farmacodinámica (PK/PD)

En un proceso infeccioso, el éxito clínico de la terapéutica antimicrobiana no sólo está dado por la cura clínica, sino también por la eliminación de la población bacteriana (cura microbiológica). En consecuencia, es fundamental determinar de manera precisa una dosis que, luego de haber circulado por el organismo animal desde el punto de administración, llegue al punto de acción con los parámetros necesarios para actuar sobre las bacterias (Martínez y col., 2006). Según Haritova y col. (2006), el índice farmacodinámico que con mayor frecuencia es utilizado para medir la actividad de un agente antimicrobiano *in vitro* es la estimación de la concentración inhibitoria mínima (MIC), y este valor se utiliza para predecir la eficacia antimicrobiana y la potencia de un fármaco. Sin embargo se debe considerar que la determinación de la MIC es llevada a cabo utilizando concentraciones fijas de antimicrobiano, en cada dilución, durante un período de tiempo determinado. Este fenómeno no se observa nunca *in vivo*, ya que las concentraciones alcanzadas en el sitio de infección, siempre aumentan hasta alcanzar un pico y luego disminuyen gradualmente. En definitiva, las concentraciones en el sitio de infección nunca se mantienen constantes en el tiempo (Sidhu y col., 2010). Es por ello que la combinación de información farmacocinética con la información farmacodinámica (integración PK/PD) permite el diseño de regímenes de dosificación racionales, con el fin de optimizar la eficacia y minimizar los efectos indeseables tales como la aparición de

resistencia, la toxicidad, o la presencia de residuos en productos de origen animal (Aliabadi y Lees, 2002)

Se ha determinado que, en las fluoroquinolonas, la farmacocinética y la farmacodinamia se integran de manera más relevante en los parámetros AUC_{0-24h}/MIC y C_{max}/MIC , y debido a que son antimicrobianos concentración dependiente (Zhanel, G., 2001), la cantidad de antimicrobiano en contacto con las bacterias (más que su persistencia) incidirá en su erradicación y consecuente curación clínica (Haritova y col., 2006; Sidhu y col., 2010)

En la determinación del parámetro a aplicar en cada caso, se deben considerar diversos factores:

• Conviene utilizar C_{max}/MIC en las siguientes circunstancias (Martínez y col., 2006):

- ✓ cuando las bacterias tienen una MIC elevada.
- ✓ cuando tienen una gran capacidad de proliferación.
- ✓ cuando hay una alta carga en el sitio de la infección.

En tales casos, la acción antimicrobiana depende de las siguientes condiciones:

- Que $C_{max}/MIC > 3$ disminuya el recuento bacteriano en un 99 %.
- Que $C_{max}/MIC \geq 8$ prevenga la aparición de resistencias .

El cumplimiento de dichas condiciones incidirá en la mortalidad de microorganismos, en el incremento de la muerte o inhibición de bacterias con MIC alta (determinante de menor número de agentes microbianos y, por lo tanto, facilitación del trabajo del sistema inmune), con el incremento del EPA en casi todas las bacterias, excepto *Streptococos β hemolíticos* (Martínez y col., 2006).

• Por otra parte, la utilización de AUC/MIC se prefiere en los siguientes casos (Martínez y col., 2006):

- ✓ cuando la efectividad del fármaco, además de la concentración, puede estar sujeta al tiempo en que supera a la MIC ($T > MIC$), como para el grepafloxacino.
- ✓ cuando $C_{max}/MIC < 8$ y el tiempo de exposición es más prolongado.
- ✓ cuando las bacterias tienen un crecimiento lento.
- ✓ cuando no existe o existe muy poco PAE.

En los casos enunciados, la acción antimicrobiana se relaciona con la siguiente condición:

- Que $AUC/MIC \geq 100$ equivale a 4 veces la MIC en intervalo de 24h.

Cabe observar que la relación AUC/MIC es importante para moxifloxacina, ciprofloxacina y grefloxacino. Dadas las características de la marbofloxacina y puesto que frente a bacterias G+ es importante tener en cuenta también el tiempo, el parámetro más representativo sería también AUC/MIC.

Es necesario tener en cuenta, también, que la cura clínica del paciente y la prevención de resistencias depende de valores diferentes según se trate de bacterias G+ y G-. Así, según varios autores (Forrest y col., 1993; Wright y col., 2000; Gebru y col., 2012; Toutain and Bousquet Melou, 2006; Toutain y col., 2002; McKellar y col., 2004; Stass y Dalhoff, 2005; AliAbadi y Lees, 2000; Toutain y Lees 2004; McKellar y col., 2004)

- para bacterias G- una AUC/MIC es de 100 ó 125 (para animales que no estén inmunocomprometidos; en este caso AUC/MIC > 200).
- para bacterias G+, se necesita una relación AUC/MIC entre 30 a 50.

Lo expuesto permite concluir que la integración PK/PD es muy útil para estimar la dosis necesaria para alcanzar el éxito en la cura bacteriana y, por lo tanto, cura clínica, recalculando el régimen de dosificación en casos de alteraciones en el aclaramiento plasmático, o para dosificar en función de la susceptibilidad del microorganismo actuante (Shidu y col., 2010). Además, se ha demostrado que la capacidad de la respuesta inmune influye en la respuesta clínica al tratamiento y en la integración PK/PD (Toutain y col., 2002; Andes y Craig, 2002; Scheld, W., 2003).

Es importante recalcar que estas relaciones PK/PD no son útiles para comparar productos ya que hay varios factores farmacocinéticos y farmacodinámicos que no pueden predecirse (capacidad para ingresar a la célula, puesto que el pH intracelular, el pK del antibiótico, el contenido de oxígeno y la actividad enzimática celular pueden alterar la acción bactericida) (Martínez y col., 2006); y por otro lado, porque valores calculados *in vitro* no otorgan certeza de lo que sucede *in vivo* (Andes y Craig, 2002; McKellar y col., 2004; Toutain y col., 2002).

II.2.8.1.- Integración farmacocinética-farmacodinámica (PK/PD) de la marbofloxacina

Varios estudios se han focalizado en comprobar la eficacia de la marbofloxacina. A continuación se relacionan los índices de eficacia calculados para diversas bacterias, en diferentes especies animales.

Tabla II.26.- Valores C_{max}/MIC y AUC/MIC en diferentes cepas bacterianas de distintas especies, tras la administración de dosis únicas de marbofloxacina

Especie	Vía	Microorganismo	C _{max} /MIC	AUC/MIC	Autor	
Bovino	IM	<i>Mannheimia haemolytica</i>	9	250	Aliabadi y Lees, 2002 ¹	
Cabras	SC	<i>Escherichia coli</i>	111	510	Dova y col., 2007 ¹	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	7,49	34		
		<i>Salmonella spp</i>	24	112		
		<i>Pasteurella multocida</i>	3,17	15		
Ovejas	IV	<i>Mannheimia haemolytica</i>	x	120,2	Sidhu y col., 2010 ¹	
	IM	<i>Mannheimia haemolytica</i>	21,1	135,5		
Buceros	IV	<i>K. pneumoniae</i> *	62,5	286,56	Lüders y col., 2012 ¹	
		<i>M. haemolytic</i> *	4,76	21,83		
		<i>Salmonella spp</i> *	27,40	125,62		
		<i>E. coli</i> *	66,67	305,67		
		<i>P. multocida</i> *	3,57	16,38		
	IM	<i>K. pneumoniae</i> *	34,69	287,5		
		<i>M. haemolytic</i> *	2,64	21,90		
		<i>Salmonella spp</i> *	15,21	126,03		
		<i>E. coli</i> *	37,00	306,67		
		<i>P. multocida</i> *	1,98	16,43		
	IV	<i>K. pneumoniae</i> *	36,56	325,94		
		<i>M. haemolytic</i> *	2,79	24,83		
		<i>Salmonella spp</i> *	16,03	142,88		
		<i>E. coli</i> *	39,00	347,67		
		<i>P. multocida</i> *	2,09	18,63		
	IV	<i>E. coli</i> *	10,45	59,65		Sarmiento y col., 2007 ¹
		<i>P. haemolytica</i> *	8,91	50,88		
<i>P. multocida</i> *		26,58	151,75			
<i>Haemophilus somnus</i> *		50,52	288,33			
<i>Mycoplasma spp</i> *		3,15	18,02			
Equinos	IV	Enterobacteriaceae	632	297	Bousquet-Mélou y col., 2002 ¹	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	81	31		
	SC	Enterobacteriaceae	36	238		
		<i>Staphylococcus aureus</i>	4,70	24		
Oral	Enterobacteriaceae	31	155			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,90	12			
Llamas	IV	<i>Mannheimia haemolytica</i> *	32,36	141,05	Rubio-Langre y col., 2012 ²	
		<i>Pasteurella multocida</i> *	24,27	105,78		
	IM	<i>Mannheimia haemolytica</i> *	17,68	154,03		
		<i>Pasteurella multocida</i> *	13,26	115,52		
	SC	<i>Mannheimia haemolytica</i> *	16,53	178,52		
		<i>Pasteurella multocida</i> *	12,40	133,89		

Puede observarse que en algunos estudios, como el de Aliabadi y Lees (2002) se demuestra el alto nivel de eficacia frente a infecciones respiratorias en ganado bovino producidas por *Mannheimia haemolytica*, como también la prevención de la aparición de resistencias.

En cabras, se administró marbofoxacina vía SC, a una dosis de 2 mg/kg, y se investigaron los índices de eficacia frente *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, productores de mastitis, *Salmonella spp* responsable de afecciones intestinales y *Pasteurella multocida* causante de infecciones respiratorias. Esos resultados mostraron que la dosis de 2 mg/kg es útil en afecciones provocadas por *E. coli* y *Salmonella spp*; mientras que para las otras bacterias se debería plantear otro régimen de dosificación (Dova y col., 2007).

Rubio-Langre y col., (2012) en llamas tratadas con 5 mg/kg utilizaron valores MIC₉₀ a partir de datos publicados (Meunier y col., 2004) obteniendo valores de C_{max}/MIC > 12 y AUC_{0-∞}/CIM₉₀ > 125 para *P. multocida* indicando que estos valores predicen resultados óptimos clínicos y una menor incidencia de desarrollo de resistencia. Otros autores (Baroni y col., 2014) proponen regímenes de 2 mg/kg y 4 mg/kg durante 24-48 horas en búfalos según la susceptibilidad bacteriana (*Escherichia coli* o *Salmonella spp*)

En el trabajo realizado por Balikci y col. (2008), se estudió la eficacia de esta molécula para tratar la enfermedad producida por *Mycoplasma capricolum subsp. capripneumoniae*, la pleuroneumonía contagiosa caprina. Observaron que con dosis de 2 mg/kg de peso corporal durante 3 días, una vez al día (dosis total administrada: 6 mg/kg) se produjo la curación del 100 % de los animales tratados, y con el protocolo de administración de 3 mg/kg, durante 2 días, una vez al día (dosis total administrada: 6 mg/kg) se curaron el 93 % de las cabras tratadas.

Haritova y col. (2006) tras la administración de marbofloxacina en pavos a dosis de 2 mg/kg, para el tratamiento de infecciones producidas por *E. coli* determinaron que esa dosis podría ser útil para lograr curación clínica, pero podría favorecer la aparición de resistencia.

Por su parte, Laraje y col. (2006), utilizando datos de MIC obtenidos en equinos y bovinos, demostraron que dosis de 2 mg/kg en camellos podía ser útil para algunas afecciones, pero bacterias con MIC mayor a 0,2 µg/mL tal vez deberían usarse dosis superiores.

Thomas y col. (2001) evaluaron la curación clínica, y con ello la eficacia de marbofloxacina, en terneros con enfermedad respiratoria, y observaron una curación clínica más rápida y una mejor tolerancia local (en el punto de inyección subcutánea) que la tilmicosina.

En corderos con infecciones respiratorias se recomiendan dosis de 3 mg/kg, una vez al día, dos veces, con 2 días de diferencia o dosis de 2 mg/kg, una vez al día durante tres días. Estas posologías demostraron gran eficacia, cura clínica y un alto porcentaje de recuperación en las lesiones pulmonares (Skoufos y col., 2007).

Sin embargo, como puede observarse, para la misma especie de bacteria, la sensibilidad a la marbofloxacina es variable dependiendo de la cepa utilizada, que a su vez depende de la especie animal, año y lugar de realización del estudio, etc, por lo que es necesario llevar a cabo los estudios de eficacia en cepas locales frente a los patógenos que afectan a una especie animal en concreto.

III.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La llama es un animal capaz de aprovechar recursos forrajeros pobres y de soportar amplitudes térmicas difíciles para cualquier otra especie doméstica; igualmente, esta especie puede aprovechar muy bien pastos de mayor calidad y adaptarse a lugares más húmedos.

La producción de llamas es una actividad que se realiza tradicionalmente en la zona del altiplano andino desde hace miles de años. Es una región caracterizada por su aridez y fragilidad del sistema ambiental. En los últimos años, se ha desplazado la actividad a regiones más húmedas y con niveles de producción más exigentes. La humedad presente en las nuevas regiones facilita el desarrollo de patologías propias de territorios con estas características. Este desplazamiento se debe, en gran medida, al interés que ha despertado la producción de carne de llama, un alimento rico en proteínas y con bajo porcentaje de colesterol y de grasa, que cubre necesidades esenciales en la alimentación de poblaciones de la región andina y que está teniendo cada vez más adeptos en zonas donde antes no se conocía. Por ello, en diversas regiones del mundo se está convirtiendo en una producción alternativa con un gran potencial de desarrollo.

Para aumentar la productividad de la especie, se hace necesario disminuir la morbilidad y mortalidad de las crías, debido a que la llama cría un teke por año, y las tasas de mortalidad son muy altas en ese período.

Es por ello que se plantea la necesidad de contar con pautas de manejo, instalaciones, programas de formación y de buena práctica de recursos sanitarios para poder hacer frente a la problemática. Cuando las medidas preventivas fracasan, un uso racional y prudente de antimicrobianos puede atenuar las consecuencias derivadas de la presencia en la población animal de patologías infecciosas de origen bacteriano. Entre las diferentes opciones terapéuticas, las fluoroquinolonas son bactericidas sistémicos que juegan un importante papel en el control de patologías infecciosas complicadas, dado su amplio espectro de actividad, escasa toxicidad y alta biodisponibilidad por diferentes vías.

Al mismo tiempo, es imprescindible practicar un uso prudente de los antibióticos, evitar la presión terapéutica regional y promover un uso eficaz y seguro que minimice: la emergencia de resistencias; los gastos superfluos; la presencia de residuos en alimentos; el deterioro del medio ambiente, por falta de conocimientos en cuanto a gestión de los residuos generados; y la pérdida de productividad. Las malas prácticas de manejo terapéutico van en detrimento del bienestar animal y provocan el desánimo de los propietarios.

No es posible instaurar pautas posológicas, esquemas terapéuticos, en esta especie por imitación de pautas eficaces y seguras en otras especies. Es necesario desarrollar estudios específicos. Los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos (PK/PD) de diferentes fluoroquinolonas, y en concreto de la marbofloxacin, han sido establecidos principalmente en especies de producción tradicional.

Nuestro grupo de trabajo ha desarrollado, en la presente década, una línea de investigación sobre el comportamiento farmacocinético de fluoroquinolonas en adultos de la especie *Lama glama*. En esta ocasión, hemos centrado nuestro estudio en el

comportamiento de los tekes (crías), debido a que se cuenta con escasos estudios en los diferentes grupos etarios.

Es conocido por todos que los animales jóvenes van completando su maduración fisiológica a medida que pasan los días; órganos como el hígado y los riñones (entre otros), y el sistema inmune, alcanzan su funcionamiento completo mucho después del nacimiento. En individuos neonatos y en edades tempranas, esta situación de falta de madurez en órganos que intervienen en los procesos de eliminación (metabolismo y excreción) de los fármacos, puede determinar modificaciones en los parámetros farmacocinéticos a medida que el animal crece, y por ende, la respuesta clínica que surja de la maduración del sistema orgánico podría ser diferente en las distintas etapas del crecimiento.

Se puede considerar que el trabajo realizado es de interés individual, social y profesional. En lo individual, el régimen de dosificación de marbofloxacina para las crías de llamas, puesto en conocimientos de los criadores, puede constituir un aporte que los ayude a controlar mejor las condiciones sanitarias de las llamas y sus crías. De ello se derivaría el interés social, pues se trata de una actividad (la cría de llamas) esencial para la subsistencia y desarrollo vital de las comunidades andinas. Además, el creciente interés que se va despertando, a nivel global, por los productos derivados de los camélidos sudamericanos (llamas, en particular), hace que la información sobre antimicrobianos capaces de actuar sobre las patologías bacterianas de los tekes constituya un aporte relevante a la conservación de la calidad sanitaria de estos animales. En cuanto a lo profesional, para el veterinario interesado en la sanidad animal, de cualquier especie, y de los camélidos en especial, la información que se ofrece en esta investigación puede constituir un aporte que incremente los conocimientos a aplicar en la actividad profesional.

Debido a esto, **el objetivo general** de nuestro estudio es alcanzar un mejor conocimiento sobre el comportamiento farmacocinético de la marbofloxacina en animales de diferentes edades, en etapas de rápido desarrollo, críticas en la cría de las llamas. De modo que a partir de una integración de datos propios, enriquecidos con datos publicados por otros autores, podamos estimar los índices de eficacia con el fin de proponer regímenes terapéuticos eficaces y seguros que nos permitan hacer frente con garantías de éxito, a patologías bacterianas de difícil resolución que puedan presentarse en la etapa de cría de los tekes.

Para avanzar en la consecución del objetivo general, se definieron los siguientes **objetivos específicos**:

- Definir los parámetros que describen el comportamiento farmacocinético de dosis únicas de marbofloxacina administrada por la vía intravenosa (IV), en forma de bolo, en tekes de diferentes edades (3, 10, 24, 50 y 80 días).
- Definir los parámetros que describen el comportamiento farmacocinético de dosis únicas de marbofloxacina administrada por la vía subcutánea (SC), en tekes de 35 días de edad.

- Aportar datos regionales propios, mediante el estudio de MIC de cepas bacterianas aisladas en llamas.
- Desarrollar una integración PK/PD, de parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos propios, a partir de los resultados obtenidos en las etapas anteriores.

Hipótesis

Existe una relación directa entre el grado de desarrollo orgánico asociado a cada etapa y la respuesta mostrada por el organismo ante un régimen terapéutico; por lo que, en las primeras etapas de rápido desarrollo, es posible predecir pautas eficaces y seguras para teques de diferentes edades, aplicando un modelo de integración de datos farmacocinéticos propios de cada edad, con datos farmacodinámicos obtenidos a partir de cepas regionales.

IV.- MATERIAL Y MÉTODOS

IV.1.- MATERIAL

IV.1.1.- Animales

El estudio se realizó sobre seis tekes (dos hembras y cuatro machos), sanos, de variedad Chaku, en fase de crecimiento. Los diferentes estudios cinéticos se desarrollaron, en cada individuo, durante el periodo comprendido entre los 3 y 84 días de edad.

Tabla IV.1.- Identificación individual y registro de pesos

Identificación	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6
Caravana (crotal)	26	28	31	32	33	34
Fecha de Nacimiento	06/04/2010	06/05/2010	21/04/2011	13/05/2011	29/05/2011	01/06/2011
Sexo	Macho	Macho	Hembra	Macho	Macho	Hembra

IV.1.2.- Fármacos utilizados

Se utilizó marbofloxacin como fármaco objeto de estudio y ofloxacin, como patrón interno.

Marbofloxacin: la sustancia patrón fue suministrada por Sigma Aldrich Fluka como VETRANAL, Marbofloxacin 100 mg, lote SZE8079X. La especialidad farmacéutica utilizada para las pruebas fue Marbocyl[®] 10%, solución inyectable (Vetoquinol, lotes 8A1085C y 8A2129C).

Ofloxacin: suministrada por Sigma lote 58H0572

IV.1.3.- Material utilizado durante la toma de muestras y su conservación

- Agujas estériles desechables (0.8 x 25 mm 21 G x 11/2", Becton Dickinson)
- Alcohol etílico 96° (PQS)
- Algodón hidrófilo
- Balanza (Balan-Cor[®])
- Guantes de látex (Gahnos S.L.)
- Jeringas estériles desechables 1ml (Becton Dickinson)
- Jeringas estériles desechables 3 ml (Becton Dickinson)
- Tijera para cortar pelo (MPS)
- Tubos Eppendorf (Daslab[®])
- Tubos de plástico para análisis hematológicos sin EDTA

IV.1.4.- Material utilizado durante la extracción y cuantificación de las muestras: reactivos

- Acetonitrilo calidad HPLC (LICHrosolv®, Merck)
- Ácido acético glacial para análisis instrumental (Panreac Química S.A.)
- Ácido fórmico 99 % RPE-ACS (Analyticals)
- Ácido fosfórico 99,99 % 85 w % solución en agua (Sigma-Aldrich)
- Agua ultrapura (Millipore Simplicity®)
- Cloroformo grado reactivo ACS
- Helio gas (Alphagas, Air Liquide España S.A.)
- Hidrogenofosfato de amonio 99,99 % (Sigma-Aldrich)
- Hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (Sigma-Aldrich)
- Metanol calidad HPLC (Scharlau Chemie S.A.)
- Nitrógeno gas (Alphagas, Air Liquide España S.A.)
- Trietilamina (Sigma Chemical CO)
- Kit isotérmico (cajas de poliestireno expandido y bolsas de gel polyfreezer) desplazamiento/mantenimiento de muestras congeladas

IV.1.5.- Instrumentación para la extracción y cuantificación

- Agitador horizontal de tubos (IKA VIBRAX VXR)
- Agitador magnético (Agimatic E)
- Balanza analítica de precisión (Mettler AE-160)
- Baño termostático B.A. BUNSEN
- Centrífuga (Hettich Zentrifugen Universal 32 R)
- Congelador (Hettich freezer – 80°C)
- pHmetro (MicroPH 2001, Crison)
- Purificador de agua (Millipore Simplicity®)
- Refrigerador (Lieber pentium frost-free)
- Sistema de desecación: campana y bomba de vacío Vacuum controller Steroglass y KNF-Lab Laboport, con Baño termostático B-A Bunsen.

IV.1.6.- Equipo de cromatografía líquida de alta eficacia

- Bomba (Spectra series P100. Thermo separation Products)
- Columna Kromasil 100 C18 5 µm 15 x 0,46 cm (Scharlab S.L.)
- Datajet integrator (Thermo separation products) (Cartucho tinta hp 51604A)
- Detector ultravioleta (Spectra series UV 100. Thermo separation Products)
- Inyector automático (Spectra SERIES AS- 1000. Thermo separation Products)
- Precolumna Kromasil C18 5U 15 x 4,6 mm (Scharlab S.L.)

IV.1.7.- Material utilizado para la obtención de las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC)

- Acido fórmico 1N
- Agar Mueller-Hinton (CMH) (Britania o Biokar)
- Agitador vortex (CKTech VI - 2, Argentina)
- Aparato Multi-inoculador bacteriano de Steers-Foltz
- Autoclave VZ100 tipo Chamberland (Argentina)
- Balanza analítica; sensibilidad 0,1 mg (Ohaus Adventurer AR2140, USA)
- Balanza portátil; sensibilidad 0,1 g (Ohaus CS 200, USA)
- Baño termostático (Mod. Masson. Vicking, Argentina)
- Bioscreen C (Helsinki, Finlandia)
- Caldo Cerebro Corazón (Britania)
- Centrífuga (Rolco 2036, Argentina)
- Cepas control (ATCC)
- CHRO Magar Staph aureus
- Deltalab Placa de microaglutinacion fondo en U
- Densitómetro (Densimat, BioMérieux; Francia)
- Estufa de cultivo (Faeta; Argentina)
- Kit comercial estéril Eurotubo[®] con medio de transporte Stuart
- Marbofloxacina
- Medio Chapman o MSA (Manitol – Salado- Agar)
- Medio Chrome E. coli
- Medio EMB o de Levine
- Peachímetro con electrodo pH/ATC (Denver Instrument UB-10, USA)

IV.1.8.- Material diverso

- Agua destilada estéril
- Alcohol etílico 70° (PQS)
- Algodón hidrófilo
- Congeladores
- Guantes de látex (Gahnos S.L.)
- Gradillas
- Inserto de fondo plano (200 µL), FB micro-serts Nacional Scientific
- Micropipetas automáticas volumen variable de 10 µl a 100 µl y de 100 µl a 1000 µl (Socorex, Argentina)
- Neveras
- Pipetas de vidrio de 1, 5 y 10 ml.
- Placas de Petri plásticas estériles
- Puntas de micropipetas 10 a 1000 µl (Daslab[®])
- Purificador de agua (Millipore, USA)
- Septos 8 mm teflón septa, 10MIL, Nacional Scientific
- Tubos de vidrio de 15 ml
- Tubos de vidrio para centrífuga de 15 ml con tapón a rosca

IV.1.9.- Instrumentación para el análisis de los datos

- Hoja de cálculo Microsoft® Excel 2010
- Impresora con escáner, OfficeJet 4575 (Hewlett Packard)
- Ordenador (HP Pavilion Entertainment con procesador AMD Turion™ 64 X2 Mobile Technology TL-60 2.00GH2)
- Procesador de texto Microsoft®Word 2010
- Programa de tratamiento estadístico INFOSTAT 2013
- Programa de tratamiento farmacocinético PC Nonline

IV.2.- MÉTODOS

IV.2.1.- Acondicionamiento y mantenimiento de los animales

Los animales pertenecían a la granja experimental de la Universidad Católica de Córdoba (UCC, Argentina), en donde se llevaron a cabo los experimentos. Las pruebas fueron autorizadas por el Comité de Ética de la UCC. Los tekes eran hijos de llamas clínicamente sanas, desparasitadas (Valbazen® per os, 1,9%) y vacunadas frente a enfermedades Clostridiales (Bioclostrigen® J5) en los meses de febrero de cada año, por lo que no fue necesario un período de aclimatación de los animales utilizados.

Las crías fueron alimentadas con leche materna y pasto que consumían en los lotes del predio junto a sus madres. De manera estratégica, según requerimientos, se les administraba a las madres fardos de alfalfa y maíz, de los que también ingerían los tekes a medida que iban creciendo.

Los tekes eran revisados periódicamente para garantizar su buen estado de salud al comienzo de cada ensayo.

IV.2.1.1.- Examen físico general

Se realizó una inspección visual del estado general de los animales (estado del aparato músculo-esquelético, manto y capa, posibles taras o defectos, etc.). Se pesaron y se estudiaron diversos parámetros fisiológicos: frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y auscultación de vías respiratorias, temperatura rectal, estado aparente de las mucosas y tiempo de llenado capilar.

IV.2.1.2.- Analítica sanguínea

Los controles sanitarios se realizaron en el laboratorio de análisis clínicos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Católica de Córdoba (Argentina).

La sangre utilizada para la analítica sanguínea procedía de la muestra sanguínea obtenida en la primera extracción realizada a cada animal, en cada uno de los estudios (muestra 0).

Análisis hematológicos: Se recogieron muestras de 1,5 ml en viales conteniendo EDTA como anticoagulante. Los parámetros estudiados fueron los siguientes:

- Basófilos
- CHCM
- Eosinófilos
- Glóbulos rojos
- Hematocrito
- Hemoglobina
- HCM
- Leucocitos
- Linfocitos
- Monocitos
- Neutrófilos en banda
- Neutrófilos segmentados
- Reticulocitos
- VCM

Bioquímica sanguínea: Los valores estudiados fueron:

- Creatinina
- FA
- GOT
- GPT
- Plaquetas
- PT
- Urea

IV.2.2.- Administración del fármaco y toma de muestras

Al comienzo de cada estudio se procedió al rasurado del pelo con tijera, de los cursos cervicales de las venas yugulares, a partir de las cuales se extraerían las muestras. Se realizaron los lavados correspondientes con solución jabonosa de povidona yodada para desinfectar dicha área.

Se contó con seis tekes (ver Tabla IV.1) para estudiar el comportamiento farmacocinético marbofloxacina, tras la administración intravenosa, y tras administración subcutánea, en ambos casos de dosis únicas.

IV.2.2.1.- Administración del fármaco

Dependiendo del estudio, se administró una dosis de marbofloxacina solución inyectable al 10% (Marbocyl® 10%) de 5 mg/kg de peso corporal, en forma de bolo vía intravenosa en la vena yugular o bien vía subcutánea en la región dorso-lumbar.

IV.2.2.2.- Obtención de las muestras

La toma de muestras se realizó, mediante jeringas estériles. Se extrajeron 3 ml de sangre en cada una de las extracciones. Los ensayos se realizaron de la siguiente manera.

- Administración intravenosa: Antes de la administración del antibiótico (muestra 0), 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 minutos, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas post-administración.
- Administración subcutánea: Antes de la administración (muestra 0), 10, 20, 30, 45, 60, 90 minutos, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 24 y 36 horas post-administración.

IV.2.3.- Registro de las muestras

El registro de las muestras se llevó a cabo en planillas diseñadas a tal fin, donde constaban:

- Los datos de todos los animales: número de la madre (crotal), número del teke (crotal), código de muestreo, día y hora de nacimiento, peso al nacer, sexo, patrón de color
- Datos referidos a la administración: Fecha. Especialidad medicamentosa, lote y fecha de caducidad. Dosis y vía de administración. Edad del animal el día de administración. Peso del animal y volumen de solución inyectable administrado. Punto de administración. Punto de toma de muestras.
- Los tiempos de administración, tiempos de extracción, tanto estimado a partir de la administración como tiempo real. Observaciones.

IV.2.4.- Acondicionamiento de las muestras

Una vez extraídas las muestras con las jeringuillas, poniendo especial cuidado en todo momento para preservarlas de la luz y mantenerlas a temperatura adecuada, se introdujo la sangre en tubos de vidrio previamente rotulados mediante sistema alfanumérico según la identificación de las planillas y se centrifugó antes de que transcurriera media hora de su extracción, a 3000 rpm durante 15 minutos. El suero resultante fue separado mediante pipetas Pasteur y se introdujo en tubos Eppendorf, también identificados conforme a los códigos de la planilla de registro de toma de muestras. Se realizaron dos alícuotas de cada muestra y un juego completo de cada estudio se guardó como medida de seguridad. Después, las muestras fueron refrigeradas y, posteriormente, almacenadas a -20°C hasta su traslado al laboratorio de la UCM. El período de almacenamiento no superó los 20 días en ninguno de los casos.

Las muestras fueron transportadas, con los permisos correspondientes del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino mediante solicitud de Importación de Material Biológico de Investigación, al laboratorio del Departamento de Toxicología y

Farmacología de la Facultad de Veterinaria de la UCM, en contenedores isotérmicos, manteniendo la temperatura mediante gel refrigerante a -20°C.

IV.2.5.- Técnica y metodología extractiva

Una vez en el laboratorio, las muestras de suero fueron descongeladas en condiciones de refrigeración. Se prepararon dos baterías de tubos de vidrio de 15 ml: con tapón a rosca para centrífuga y sin tapón, identificados con el mismo sistema alfanumérico de las planillas. Siendo en todo momento protegidas de la incidencia de la luz solar.

IV.2.5.1.- Metodología extractiva

- Se homogeneizaron las muestras tanto de suero, como de ofloxacina, patrón interno (P.I.) mediante agitación de los tubos eppendorf, durante 5 minutos a 800 rpm. (Agitación por separado).

- Se extrajeron 300 µl de suero y se introdujeron en un tubo de centrífuga de 15 ml de capacidad, con tapón de rosca. Se añadieron 75 µl de una solución de patrón interno (a una concentración de 5 µg/ml de ofloxacina, disuelta en ácido fórmico 0,1 N. La concentración final de patrón interno en la muestra antes del procesado fue de 1 µg/ml).

- Se agitó la mezcla durante 5 minutos a 800 rpm.

- Se añadieron 4,5 ml de triclorometano, se taparon los tubos y se agitaron nuevamente durante 10 minutos a 1000 rpm.

- Se centrifugaron las muestras a 4000 rpm durante 7 minutos y 10 °C.

- Se separó la fase orgánica con pipetas Pasteur, y se pasó a otro tubo de vidrio (sin tapón de rosca), para su desecado bajo corriente de nitrógeno a 40°C durante aproximadamente 20 minutos.

- El residuo seco obtenido se reconstituyó con 150 µl de fase móvil, se colocó en un inserto y se acondicionó para incorporarse a la cesta de lectura del inyector automático, para su posterior determinación. El volumen de inyección en el bucle del cromatógrafo fue de 20 µl.

IV.2.6.- Metodología analítica

IV.2.6.1.- Detección de fármacos

La metodología seguida se basó en los procedimientos de cromatografía líquida de alta eficacia descritos previamente Schneider y col. (1996) y modificado por de Lucas y col. (2004).

Previamente a la puesta a punto del método se realizó un análisis del espectro de absorción de la marbofloxacina de 1 µg/ml disuelta en ácido fórmico 0,1 N para determinar la longitud de onda en la que presentaba máxima absorbancia.

IV.2.6.2.- Preparación de la Fase Móvil

Se utilizó una fase móvil compuesta por tampón pH 2,7: metanol: acetonitrilo: ácido acético: trietilamina (74: 20: 4: 1: 1, v/v/v/v/v). El tampón es una solución acuosa al 0,4% de hidrogenofosfato de amonio (p/v) y 0,4% de hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (p/v). El pH se ajustó con ácido fosfórico al 85 %.

IV.2.6.3.- Condiciones cromatográficas

La fase estacionaria seleccionada para la detección y cuantificación de marbofloxacina fue una columna Kromasil 100 C18 5 µm 15 x 0,46, protegida por una precolumna Kromasil C18 5 µm tamaño 15 x 4,6 mm. La longitud de onda seleccionada fue de 295 nm. Flujo de la fase móvil, isocrático a 0,6 ml/min. Temperatura ambiente controlada a 24°C. Volumen de muestra inyectada 20 µl.

IV.2.6.4.- Validación del método analítico

Rectas de calibración

Se estudió la relación entre el cociente del área bajo la curva cromatográfica de distintas concentraciones de marbofloxacina, sobre el área bajo la curva cromatográfica de una concentración fija de patrón interno, ofloxacina (AUC_m/AUC_o). A partir de dicha relación y por medio de una regresión lineal se construyeron las rectas de calibración cuyas ecuaciones se utilizaron, posteriormente para conocer las concentraciones de marbofloxacina (AUC_m/AUC_o) presentes en las muestras problema.

Se realizó una recta de calibración para las concentraciones más bajas y otra que define las concentraciones más altas. Estas rectas se obtuvieron mediante el análisis de las siguientes concentraciones en suero:

Con un intervalo de 0,025 a 1 µg/ml (0,025; 0,05; 0,1; 1) para la primera recta y un intervalo de 1 a 15 µg/ml (1; 2,5; 5; 10; 15) para la segunda recta.

El suero fortificado con los fármacos a las diferentes concentraciones, contenía también el patrón interno (ofloxacina) tal y como se describe en el apartado de extracción.

Para la validación del método analítico se utilizaron los siguientes criterios: linealidad, precisión, exactitud, (variaciones inter-día e intra-día), límite de detección y cuantificación (sensibilidad), reproducibilidad y recuperación.

IV.2.6.5.- Linealidad

Se utilizaron soluciones de las sustancias puras (marbofloxacina y ofloxacina) en ácido fórmico 0.1 N.

El intervalo de concentraciones estudiadas fue de 0,025 a 15 µg/ml para la marbofloxacin y de 0,5 a 5 µg/ml para la ofloxacin.

Las soluciones fueron preparadas cada día por sextuplicado y cada solución inyectada por duplicado, determinándose el área bajo la curva cromatográfica (AUC) media y la desviación estándar para cada concentración (fueron utilizadas 3 curvas por día, durante 3 días distintos, 6 determinaciones de cada concentración). Los resultados fueron procesados mediante regresión lineal obteniéndose una ecuación que define la relación existente entre las distintas concentraciones ensayadas y la respuesta observada (AUC).

IV.2.6.6.- Precisión y exactitud

La precisión refleja la proximidad entre las diferentes medidas individuales de una misma concentración. Se describe por el coeficiente de variación, por lo tanto:

$$\text{Precisión (\%)} = (\text{DE}/\text{media}) \times 100$$

Donde DE es la desviación estándar.

Se determinó para cada concentración dentro del mismo día (repetibilidad) y en distintos días (reproducibilidad) siguiendo el mismo método. Se considera que para cada nivel de concentración estos valores no deben ser superiores al 15 %, excepto para el límite de cuantificación que puede ser de hasta el 20 %.

La exactitud, en cambio, describe la proximidad de los resultados obtenidos a partir del método analítico respecto del valor verdadero.

$$\text{Exactitud (\%)} = (\text{Concentración experimental}/\text{Concentración teórica}) \times 100$$

El valor de este criterio debe encontrarse en un valor entre 80-120%

En ambas metodologías los coeficientes de variación tanto intra-día como inter-día se calcularon para cuatro concentraciones distintas, que fueron analizadas por triplicado (intra-día), tres días distintos (inter-día).

IV.2.6.7.- Límite de detección

El límite de detección indica la mínima concentración del fármaco analizado que puede ser detectada con el método analítico utilizado. Se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$L.D. = \frac{k.DE}{m}$$

Donde *L.D.* es el límite de detección; *k* es la constante que indica el margen de seguridad y es igual a 3; *DE* es la desviación estándar de las muestras blanco; *m* es la pendiente de la recta de calibración.

IV.2.6.8.- Límite de cuantificación o sensibilidad

Se corresponde con la concentración más baja que puede cuantificarse empleando el método validado. Es aquel identificable y reproducible con una precisión menor de 20 % y una exactitud de 80-120 %.

IV.2.6.9.- Reproducibilidad del método analítico

La reproducibilidad del método analítico se determinó a partir de los coeficientes de variación inter-día e intra-día. Para ello se utilizaron los valores de área bajo la curva cromatográfica (AUC) de cuatro concentraciones distintas: 0,25; 0,1; 1 y 10 µg/ml.

Para el cálculo del coeficiente de variación intra-día se tuvo en cuenta la variación entre los valores hallados para una misma concentración en un mismo día por la mañana, a mediodía y por la tarde (intervalos de 8 horas de diferencia) y estas mediciones se repitieron durante tres días diferentes. El coeficiente de variación inter-día se calculó a partir de los valores de AUC para cada una de las concentraciones durante 3 días distintos.

IV.2.6.10.- Recuperación

La recuperación del método extractivo se calculó con las áreas bajo la curva de ocho concentraciones distintas (0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2; 5 µg/ml). Se utilizaron 6 mediciones de cada concentración realizadas en días diferentes mediante la adición al suero de un pequeño volumen (<4 %) de distintas soluciones de marbofloxacina que permiten lograr dichas concentraciones.

Los porcentajes medios de recuperación y su error estándar fueron calculados por comparación de las AUC obtenidas tras la extracción de marbofloxacina a partir del suero y las AUC que correspondían a cada concentración de acuerdo a las ecuaciones de las rectas de linealidad de los fármacos en ácido fórmico 0.1 N. Estos valores se determinaron sólo para establecer la bondad de nuestro método extractivo y no para el cálculo de las concentraciones, ya que las rectas de calibración utilizadas para dicho cálculo fueron confeccionadas en suero y, por lo tanto, no fue necesario corregir los resultados con el valor de la recuperación.

La estabilidad de los fármacos fue ensayada mediante muestras congeladas a -20°C durante 2 meses a tres concentraciones distintas de 0,05; 1 y 5 µg/ml.

IV.2.7.- Tratamiento cinético

Los valores de la evolución de las concentraciones plasmáticas de la marbofloxacina en función del tiempo se ajustaron a un modelo farmacocinético no compartimental y compartimental basado en la teoría de los momentos estadísticos mediante el programa de cálculo de parámetros farmacocinéticos PC NonLine, comprobando cuál de ellos se ajustaba mejor a los criterios de Akaike (AIC), al índice de correlación (CORR) y al índice de SCHWARZ (SC).

Todos los valores de las concentraciones plasmáticas obtenidos de cada animal se procesaron y se ajustaron de forma individual y posteriormente, se procedió al cálculo de la media de los parámetros farmacocinéticos entre los individuos (n=6) que conformaban cada uno de los ensayos realizados.

El cálculo de la biodisponibilidad subcutánea se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$F(\%) = \left(\frac{AUC_{\infty e.v.}}{D_{e.v.}} \right) \times \left(\frac{D_{i.v.}}{AUC_{\infty i.v.}} \right) \times 100$$

Donde F es la biodisponibilidad porcentual; $AUC_{\infty e.v.}$ es el área bajo la curva de concentraciones plasmáticas en función del tiempo desde el tiempo 0 hasta infinito para la vía extravascular; $D_{e.v.}$ es la dosis administrada por la vía extravascular; $AUC_{\infty i.v.}$ es el área bajo la curva de concentraciones plasmáticas en función del tiempo desde el tiempo 0 hasta infinito para la vía intravenosa; $D_{i.v.}$ es la dosis administrada por la vía intravenosa.

IV.2.8.- Cálculo de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)

IV.2.8.1.- Toma de muestras

Las bacterias se aislaron a partir de muestras biológicas de las llamas pertenecientes a la UCC. Se registraron pocas afecciones en general y entre éstas, las más destacadas eran de piel debido a laceraciones, aunque también se presentaron afecciones digestivas. Previo a la toma de muestra de piel y posterior a la sujeción del animal, se realizó la desinfección de la zona circundante con alcohol 70°, se tomaron las medidas asépticas pertinentes y se extrajo la secreción visualizada con un kit comercial estéril Eurotubo® con medio de transporte Stuart. Para la toma de muestras de afecciones digestivas se obtuvo la secreción con el mismo kit comercial poniendo especial cuidado en no contaminar las muestras con posibles bacterias circundantes. Una vez obtenida la muestra, se trasladó al laboratorio de Farmacología y Toxicología de la UCC; allí se sembraron en diferentes medios selectivos, de acuerdo al origen de la misma. Si la procedencia era heridas de piel, en primer lugar se sembraba en un medio Chapman o MSA (Manitol – Salado- Agar) y posteriormente el Chrome Stafilococo; si el origen era el intestino, se sembraba en un medio EMB o de Levine y posteriormente el medio Chrome *E. coli*. Al observarse el crecimiento de alguna cepa se procedía a su aislamiento e identificación, para posteriormente, realizar el procedimiento de cálculo de la MIC frente a marbofloxacina.

IV.2.8.2.- Determinación de la concentración inhibitoria mínima (MIC) de marbofloxacina frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, procedentes de llamas

Se aislaron 24 casos de infecciones en piel y 19 casos de diarreas bacterianas, descartando las producidas por parásitos. Se realizó el aislamiento microbiológico y la identificación de los patógenos.

IV.2.8.3.- Prueba de susceptibilidad por el método de microdilución en caldo

Este método consiste en enfrentar varios microorganismos disueltos en caldo Mueller-Hinton a diferentes concentraciones de marbofloxacina. Se emplearon como control cepas de *S. aureus* ATCC 29213, y de *E. coli* ATCC 25922, y se trabajó bajo las recomendaciones del CLSI, 2006.

Se utilizaron 11 diluciones, en el intervalo de 0.033 a 16 µg/ml. Para su elaboración se disolvieron 32 mg de marbofloxacina (corregidos por pureza) del estándar de marbofloxacina sulfato en 10 ml de ácido fórmico 0.1 N (3.200 µg/ml). Las siguientes diluciones se indican en la tabla presentada a continuación.

Tabla IV.2.- Elaboración de Soluciones Madre (SM) para la elaboración de estándares de marbofloxacina

Identificación de la Sol. Madre (SM)	Vol. SS (ml)	Vol. SM (ml)	Vol. agua agregado (ml)	Patrón Conc. SM (µg/ml)
Solución stock (SS)	-	-	-	3200
1	1	-	9	320
2	-	2	2	160
3	-	2	2	80
4	-	2	2	40
5	-	2	2	20
6	-	2	2	10
7	-	2	2	5
8	-	2	2	2,5
9	-	2	2	1,25
10	-	2	2	0,62

Tabla IV.3.- Elaboración de estándares de marbofloxacina, utilizando las SM

Identificación de la Sol. Madre (SM)	Vol. SM (ml)	Sol. Madre utilizada	Vol. Caldo M-H agregado (ml)	Patrón Conc. Sol. Estándar
1	0,5	SM 1	4,5	32
2	0,5	SM 2	4,5	16
3	0,5	SM 3	4,5	8
4	0,5	SM 4	4,5	4
5	0,5	SM 5	4,5	2
6	0,5	SM 6	4,5	1
7	0,5	SM 7	4,5	0,5
8	0,5	SM 8	4,5	0,25
9	0,5	SM 9	4,5	0,125
10	0,5	SM 10	4,5	0,062
11	0,25	SM 10	4,5	0,033

El medio de cultivo utilizado fue Mueller-Hinton (CMH); se esterilizó en autoclave (120° durante 15 minutos) y se mantuvo a temperatura ambiente y estéril hasta su

utilización. Las soluciones estándar de marbofloxacina fueron vertidas asépticamente en las placas. Por una parte, se utilizó 0,05 ml de solución estándar, junto a 0,05 ml de CMH estéril; con esto se obtuvo un resultado de concentración final de los estándares de marbofloxacina en el rango de 0,015 a 8 µg/ml.

Posteriormente, se sembraron las cepas de *S. aureus* en medio CHRO Magar Staph aureus y las cepas de *E. coli* en medio EMB, se replicaron y se realizaron los inóculos de cada una. Luego, se elaboró, con agua destilada estéril, una solución con 0,5 McFarland de turbidez, lo cual representa una densidad de 10^8 UFC/ml; con ella se realizaron dos diluciones más, a fin de obtener la concentración final de 10^6 UFC/ml, que luego se depositó en la placa junto a cada una de las soluciones estándar. Finalmente, en cada pocillo de 7 mm realizados con sacabocado estéril se colocó cada una de las cepas y se las enfrentó a todas las concentraciones de los estándares. También, y bajo el mismo procedimiento, se sembraron cepas control (ATCC) sin marbofloxacina para evaluar la ausencia de contaminación o de traspaso de antimicrobiano durante el mismo.

IV.2.8.4.- Lectura de las placas

Las placas se incubaron a 37°C durante 18 a 24 h. Una vez transcurrido ese tiempo, se colocaron las mismas sobre un fondo oscuro a fin de optimizar su observación y se registró como MIC la concentración más baja de marbofloxacina que inhibió el crecimiento del inóculo por completo.

IV.2.9.- Tratamiento estadístico

El estudio de la linealidad del método analítico y de la relación entre las distintas concentraciones de la fluoroquinolona, y el cociente entre área bajo la curva cromatográfica de la misma y del patrón interno se basó en la estimación de la recta de regresión mediante mínimos cuadrados, comprobando la aleatoriedad, la linealidad y la homogeneidad de varianzas. La medida de asociación para la variable cuantitativa se valoró mediante el coeficiente de correlación lineal (r^2). La bondad del ajuste se evaluó en función a la proximidad de este coeficiente a la unidad.

El nivel de significación fue de $p < 0,05$.

Se procesaron y ajustaron todos los parámetros farmacocinéticos de las concentraciones séricas de todos los individuos y en sus diferentes edades. Posteriormente, se realizó el cálculo de la media aritmética y los correspondientes desvíos de los parámetros farmacocinéticos de los seis animales en cada una de las etapas en las que se llevó a cabo el estudio.

El análisis estadístico de los datos de los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras cada tratamiento, se realizó con el programa Infostat 2013.

Los parámetros fueron sometidos a un análisis de la varianza (ANOVA), empleándose el test de comparaciones múltiples de Bonferroni. Previamente se determinó el supuesto de homocedasticidad y de normalidad de los datos, para lo cual se

emplean las pruebas de ANOVA aplicado a los residuales, y de Shapiro Wilks, respectivamente.

En aquellos casos en que no cumplieron los requisitos de normalidad y de homocedasticidad, se utilizó la estadística no paramétrica de Kruskal Wallis comparando los datos de manera pareada.

En todos los casos el nivel de significación fue del 5% ($p < 0,05$).

IV.2.10.- Cálculo de índices de eficacia

Al ser antimicrobianos concentración dependiente (Zhanel, G., 2001), los índices que mejor reflejan la integración farmacocinética/farmacodinamia de las fluoroquinolonas de cara a su eficacia, basándose en la erradicación bacteriana y consecuente curación clínica (Haritova y col., 2006; Sidhu y col., 2010) son AUC_{0-24h}/MIC y C_{max}/MIC , según numerosos autores (Toutain and Bousquet Melou, 2006; Toutain y col., 2002; McKellar y col., 2004; Stass y Dalhoff, 2005; AliAbadi y Lees, 2000; Toutain y Lees 2004; McKellar y col., 2004)

Por ello, para la realización de estos estudios se utilizaron los valores de concentraciones máximas (C_{max} y C_0 en el caso de la vía IV) y de área bajo la curva ($AUC_{0-\infty}$) obtenido para las vías de administración IV y SC y los datos de MIC_{90} de las cepas aisladas.

V.- RESULTADOS

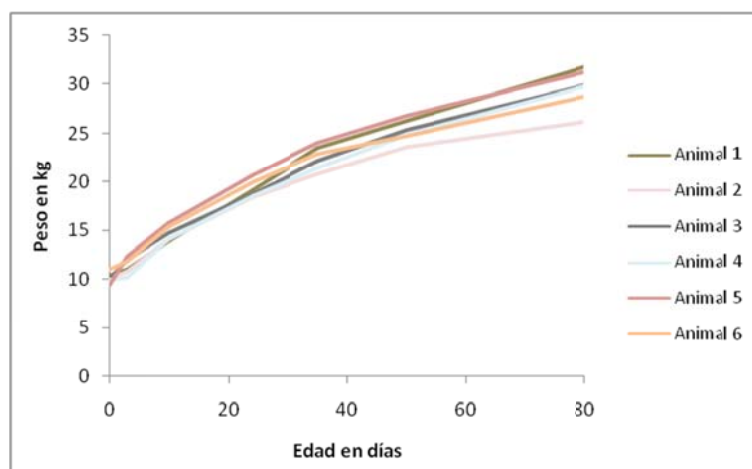
V.1.- EXAMEN CLÍNICO Y SEGUIMIENTO DEL PESO DE LOS ANIMALES

Desde el momento del nacimiento hasta la finalización de los ensayos, los animales fueron observados todos los días, a fin de identificar signos clínicos de algún proceso patológico; no se registraron, en ningún momento, signos o síntomas que pudieran indicar alguna alteración fisiológica. Tampoco se observó manifestación del dolor o tumefacción en los sitios de administración del fármaco.

Antes de comenzar cada estudio se pesaba a todos los animales. Los registros de peso se exponen en la tabla V.1; con ellos realizamos las curvas de crecimiento de los animales, que nos permiten estimar la corrección de desarrollo.

Tabla V.1.- Registro de pesos en diferentes edades, media y desvío estándar

Peso	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media \pm DE
Al nacimiento	10,4	10,0	10,0	10,0	9,4	11,0	10,1 \pm 0,53
A los 3 días de edad	11,0	10,8	12,0	10,2	12,3	11,8	11,3 \pm 0,81
A los 10 días de edad	13,9	14,1	14,7	14,1	15,8	15,3	14,6 \pm 0,76
A los 24 días de edad	19,2	18,4	18,7	18,5	20,7	20,0	19,2 \pm 0,92
A los 35 días de edad	23,5	20,8	22,1	21,4	24,0	22,9	22,4 \pm 1,24
A los 50 días de edad	26,3	23,6	25,4	24,8	26,8	24,7	25,2 \pm 1,16
A los 80 días de edad	31,8	26,2	29,9	29,8	31,2	28,8	29,6 \pm 1,99



Gráfica V.1.- Evolución del peso de cada animal

En las tablas IX.1, IX.2 y IX.3 (Anexo) se detallan los valores de los parámetros hematológicos y bioquímica sanguínea obtenidos en los animales a los 3, 35 y 80 días de edad previos a cada estudio y en la tabla IX.4 los valores de referencia.

V.2.- METODOLOGÍA ANALÍTICA

V.2.1.- Condiciones cromatográficas: longitud de onda

El análisis del espectro de absorción ultravioleta de la marbofloxacin disuelta en una solución de ácido fórmico 0,1 N, en una concentración de 1 µg/ml, presentó un pico de máxima absorbancia a una longitud de onda de 302 nm.

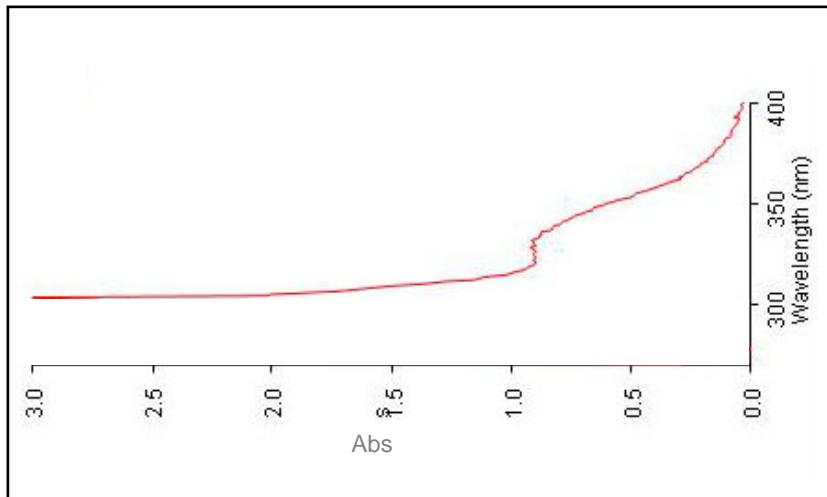


Figura V.1.- Espectro de absorción ultravioleta de la marbofloxacin

Bajo las condiciones cromatográficas descritas, en el apartado de material y métodos, el tiempo de retención observado en las muestras de la recta de calibración fue de $6,66 \pm 0,08$ para la marbofloxacin y de $8,15 \pm 0,12$ para la ofloxacin (patrón interno).

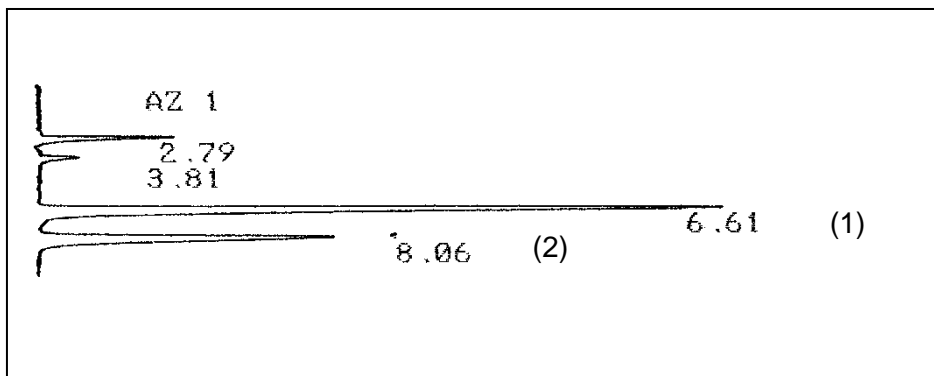


Figura V.2.- Cromatograma obtenido tras el análisis mediante HPLC de una muestra plasmática que contiene marbofloxacin (1) y ofloxacin (2), como patrón interno

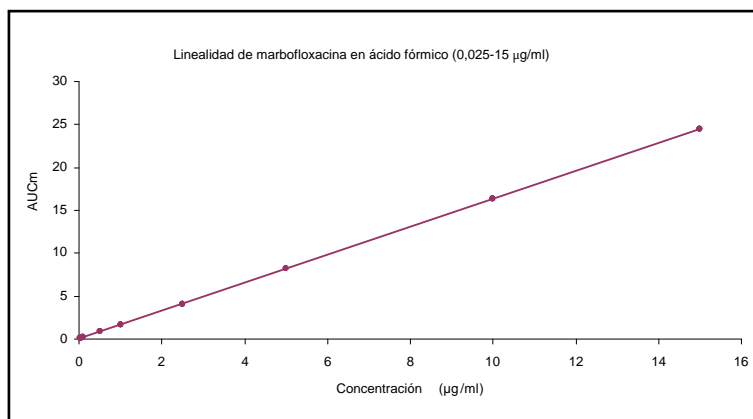
V.2.2.- Linealidad

Se estableció una relación lineal, entre las distintas concentraciones de marbofloxacin (CC) disuelta en ácido fórmico 0,1 N y el área bajo la curva cromatográfica (AUCm), en el intervalo de las concentraciones ensayadas (de 0,025 a 15

$\mu\text{g/ml}$). La ecuación de la recta y el coeficiente de determinación r^2 obtenidos por regresión lineal fueron:

$$\text{AUC}_m = 1,63 \times \text{CC} + 0,033$$

$$(r^2 = 0,999)$$



Gráfica V.2.- Representación de la recta obtenida mediante regresión lineal de la relación entre las concentraciones de marbofloxacina en ácido fórmico y el área bajo la curva cromatográfica (AUC)

Pudimos observar, que la ofloxacina (utilizada como patrón interno) presentó también una relación lineal, entre las diferentes concentraciones y el área bajo la curva cromatográfica, en el intervalo de concentraciones comprendidas entre 0,05 y 5 $\mu\text{g/ml}$.

V.2.3.- Reproducibilidad del método analítico

La variabilidad inter-día e intra-día del método analítico en plasma, ha resultado en los siguientes coeficientes de variación (media \pm D.E.)

$$\text{C.V. inter-día} = 5,97 \pm 1,41$$

$$\text{C.V. intra-día} = 5,71 \pm 3,90$$

V.2.4.- Recuperación

El porcentaje medio de recuperación obtenido en las muestras plasmáticas de marbofloxacina, al ser sometidas a la técnica extractiva, fue de $91,73 \pm 4,57 \%$.

V.2.5.- Rectas de calibración

Se observó que las medias obtenidas de la relación entre el área bajo la curva cromatográfica de marbofloxacina y el área bajo la curva cromatográfica del patrón

interno (AUC_m/AUC_o) diferían según tramos de concentración, por lo que se elaboraron dos rectas de calibración, una para valores altos de concentración y otra para valores bajos.

En la tabla V.2 se muestran los valores de concentración y áreas bajo la curva del a marbofloxacina con los que se construyeron las rectas.

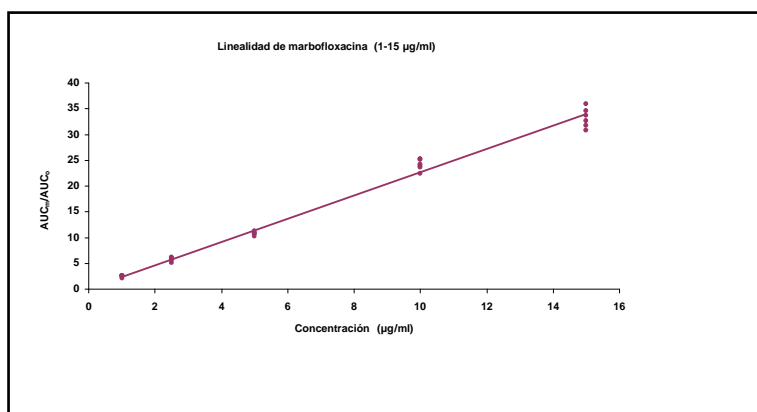
Tabla V.2.- Relación AUC_m/AUC_o correspondiente a las distintas concentraciones plasmáticas de marbofloxacina (media \pm DE)

CONCENTRACIÓN ($\mu\text{g/ml}$)	AUC_m/AUC_o (media \pm DE)
0,025	0,0676 \pm 0,0017
0,05	0,1321 \pm 0,0062
0,1	0,2489 \pm 0,0089
0,5	1,0923 \pm 0,1634
1	2,4515 \pm 0,1887
2,5	5,7914 \pm 0,4154
5	10,7783 \pm 0,3605
10	24,0868 \pm 1,0702
15	33,2126 \pm 1,8492

El análisis, mediante regresión lineal por mínimos cuadrados, del cociente entre el área bajo la curva cromatográfica de marbofloxacina y el área bajo la curva cromatográfica del patrón interno (AUC_m/AUC_o), para las concentraciones de marbofloxacina comprendidas entre 1 y 15 $\mu\text{g/ml}$, dio lugar a la siguiente ecuación:

$$AUC_m = 2,24797 \times CC + 0,202678$$

($r^2 = 0,989671$) para valores altos (1-15 $\mu\text{g/ml}$).

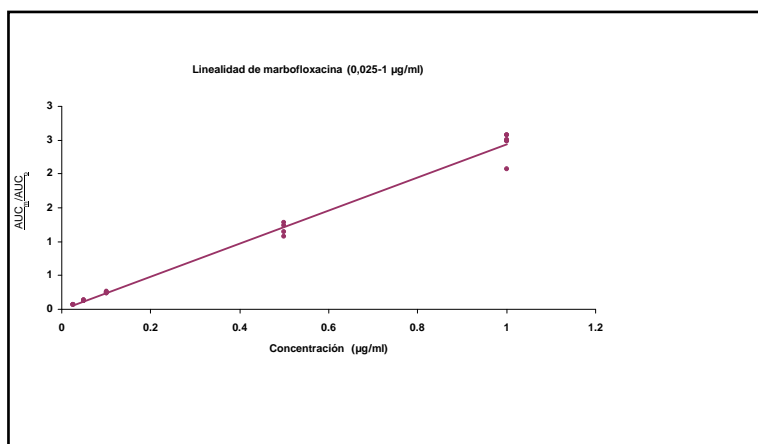


Gráfica V.3.- Recta de calibración de la marbofloxacina para las concentraciones de marbofloxacina comprendidas entre 1-15 $\mu\text{g/ml}$

El mismo análisis para concentraciones de marbofloxacina comprendidas entre 0,025 y 1 µg/ml:

$$AUC_m = 2,43908 \times CC + 0,00142317$$

($r^2 = 0,990966$) para valores bajos 0,025-1 µg/ml.

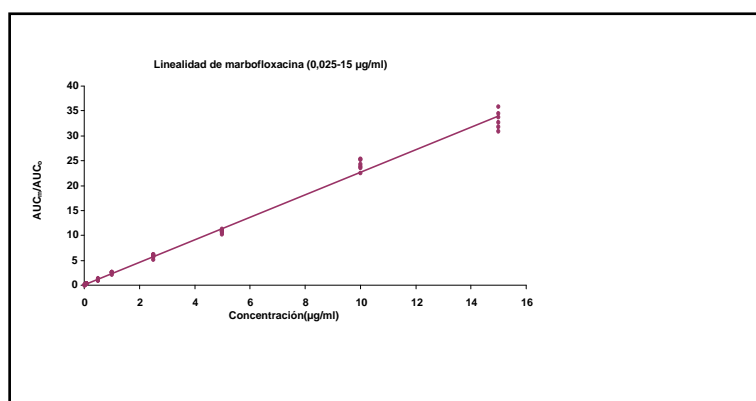


Gráfica V.4.- Recta de calibración de la marbofloxacina para las concentraciones de marbofloxacina comprendidas entre 0,025- 1 µg/ml

Finalmente se presentan los resultados del mismo análisis para concentraciones de marbofloxacina comprendidas entre 0,025 y 15 µg/ml:

$$AUC_m = 2,26045 \times CC + 0,0678340$$

($r^2 = 0,993954$) recta total para valores de 0,025 y 15 µg/ml.



Gráfica V.5.- Recta de calibración para las concentraciones de marbofloxacina comprendidas entre 0,025 y 15 µg/ml

V.2.6.- Límite de cuantificación o sensibilidad

El límite de cuantificación del método analítico calculado para la marbofloxacina fue de 0,025 µg/ml con un valor de exactitud de $119 \pm 1,22$ y de precisión de $6,55 \pm 5,12$.

V.3.- ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE LA MARBOFLOXACINA

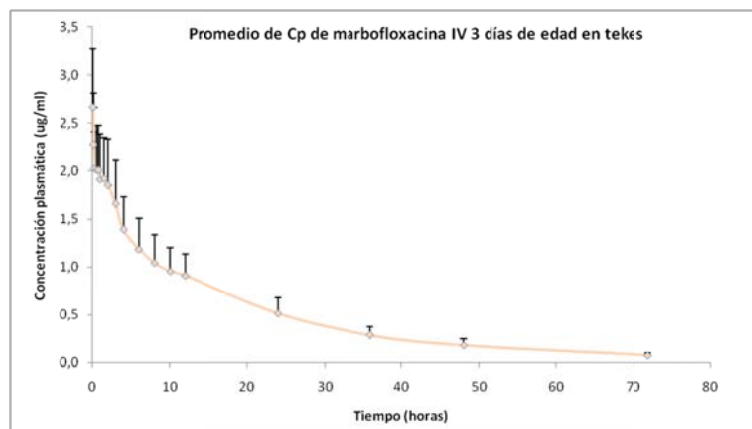
V.3.1.- Estudio 1: administración IV de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes de 3 días de edad

En la tabla V.3 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo, obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de marbofloxacin. En la gráfica V.6 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes. En las tablas V.4 y V.5 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a modelos bicompartimental y no compartimental respectivamente.

Tabla V.3.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$) media y desviación estándar de marbofloxacin tras la administración intravenosa (IV) en tekes de 3 días de edad

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media \pm DE
0,08	2,94	3,39	2,26	2,08	sd	sd	2,67 \pm 0,61
0,17	2,32	3,28	1,72	2,06	2,01	2,28	2,28 \pm 0,54
0,25	2,24	2,65	sd	1,91	1,64	2,06	2,03 \pm 0,38
0,5	2,11	2,71	sd	1,74	1,51	2,37	2,01 \pm 0,47
0,75	1,97	2,84	1,59	1,77	1,67	2,22	2,01 \pm 0,47
1	1,90	2,65	1,52	1,74	1,42	2,27	1,92 \pm 0,47
1,5	1,77	2,34	1,39	1,56	1,96	2,49	1,92 \pm 0,43
2	1,76	2,41	1,31	1,44	1,75	2,45	1,85 \pm 0,48
3	1,54	2,11	1,22	1,24	1,53	2,31	1,66 \pm 0,45
4	1,39	1,42	1,16	1,18	1,15	2,04	1,39 \pm 0,34
6	1,15	1,16	1,01	0,96	1,02	1,82	1,19 \pm 0,32
8	0,96	1,19	0,87	0,85	0,83	1,58	1,05 \pm 0,29
10	0,87	1,00	0,99	0,67	0,80	1,39	0,95 \pm 0,25
12	0,82	0,82	0,91	0,59	1,09	1,23	0,91 \pm 0,23
24	0,71	0,61	0,45	0,28	0,39	0,66	0,51 \pm 0,17
36	0,37	0,27	0,28	0,19	0,20	0,41	0,29 \pm 0,09
48	0,22	sd	0,20	0,10	0,13	0,26	0,18 \pm 0,06
72	0,06	sd	0,08	0,05	0,07	0,12	0,07 \pm 0,03

sd: sin datos



Gráfica V.6.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacin tras la administración de una dosis de 5mg/kg intravenosa en tekes de 3 días de edad

Tabla V.4.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg pv de marbofloxacin (modelo bicompartimental), en tekes de 3 días.

Parámetro	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
A (µg/ml)	1,09	1,81	0,70	1,34	1,56	2,14	1,44 ± 0,51
B (µg/ml)	1,53	1,50	1,34	0,61	0,22	0,33	0,92 ± 0,60
α (h)	0,72	0,40	1,35	0,17	0,08	0,06	0,46 ± 0,50
β (h)	0,04	0,04	0,04	0,04	0,02	0,02	0,03 ± 0,01
AUC (µg·h/ml)	37,88	38,24	33,63	25,22	32,90	53,20	36,84± 9,29
t _½ K ¹⁰ (h)	10,02	8,01	11,38	8,94	12,80	14,96	11,02 ± 2,58
t _½ α (h)	0,96	1,75	0,51	4,01	9,20	11,19	4,60 ± 4,54
t _½ β (h)	16,48	15,57	17,07	19,71	38,36	39,66	24,48 ± 11,35
K ¹⁰ (h)	0,07	0,09	0,06	0,08	0,05	0,05	0,07 ± 0,01
K ¹² (h)	0,26	0,15	0,43	0,05	0,01	0,01	0,15 ± 0,17
K ²¹ (h)	0,44	0,20	0,90	0,08	0,03	0,02	0,28 ± 0,34
Volumen (L/kg)	1,91	1,51	2,44	2,56	2,81	2,03	2,21 ± 0,48
C ₀ (µg/ml)	2,62	3,31	2,05	1,96	1,78	2,46	2,36 ± 0,56
Cl (L/kg·h)	0,13	0,13	0,15	0,20	0,15	0,09	0,14 ± 0,03
AUMC (µg·h/ml)	866,91	767,88	815,63	541,32	948,31	1627,28	927,89 ± 69,03
MRT (h)	22,88	20,08	24,26	21,46	28,83	30,59	24,68 ± 4,17
Vd _{ss} (L/kg)	3,02	2,63	3,61	4,25	4,38	2,87	3,46 ± 0,74

A continuación, se muestran los parámetros farmacocinéticos, en un modelo no compartimental, los cuales nos ayudan a comparar datos con otras vías de administración (n=6).

Tabla V.5.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg pv de marbofloxacin (modelo no compartimental), en tekes de 3 días

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
C ₀ (µg/ml)	3,64	3,49	2,88	2,09	3,08	2,81	3,00 ± 0,55
AUC _{last} (µg·h/ml)	37,74	32,06	32,08	24,25	30,86	48,32	34,22 ± 8,14
t _½ λ (h)	13,68	14,36	18,93	16,53	23,35	20,19	17,84 ± 3,69
AUC _∞ (µg·h/ml)	38,96	38,05	34,20	25,29	33,11	51,69	36,88 ± 8,73
V _z (L/kg)	2,53	2,72	3,99	4,72	5,09	2,82	3,64 ± 1,11
Cl (L/kg·h)	0,13	0,13	0,15	0,20	0,15	0,10	0,14 ± 0,03
MRT _{last} (h)	19,53	11,75	19,45	16,30	16,87	18,46	17,06 ± 2,92
Vd _{ss} (L/kg)	2,80	2,47	3,57	3,87	3,46	2,31	3,08 ± 0,64

V.3.2.- Estudio 2: administración IV de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes de 10 días de edad.

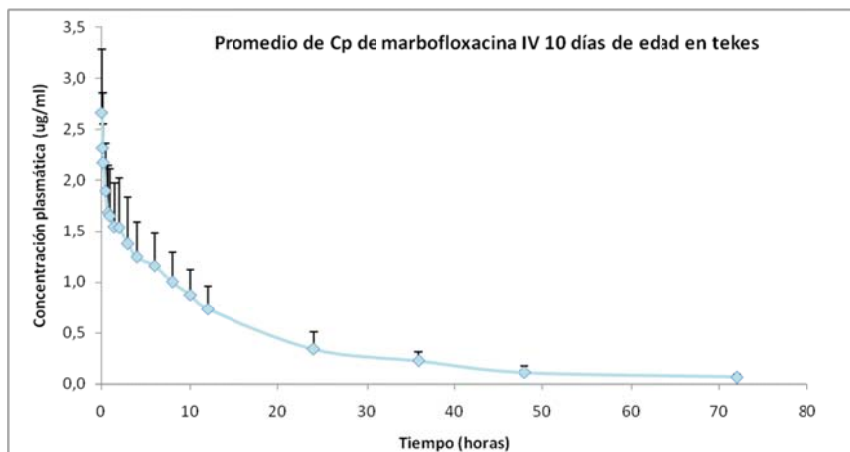
En la tabla V.6 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo, obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de marbofloxacin. En la gráfica V.7 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes. En las tablas V.7 y V.8 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a modelos bicompartimental y no compartimental respectivamente.

Resultados

Tabla V.6.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$) media y desviación estándar de marbofloxacina tras la administración IV en tekes de 10 días de edad

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media \pm DE
0,08	2,36	2,55	2,21	2,48	2,66	3,75	2,67 \pm 0,55
0,17	sd	2,42	2,19	2,07	1,76	3,19	2,32 \pm 0,54
0,25	2,27	2,18	1,97	1,92	1,71	2,98	2,17 \pm 0,44
0,5	1,93	2,05	1,34	1,92	sd	2,63	1,90 \pm 0,45
0,75	1,90	1,63	1,23	1,63	1,36	2,33	1,68 \pm 0,40
1	1,68	1,73	1,30	1,62	1,21	2,34	1,65 \pm 0,40
1,5	1,65	1,68	1,21	1,40	1,24	2,06	1,54 \pm 0,32
2	1,49	1,67	1,12	1,36	1,42	2,15	1,54 \pm 0,35
3	1,34	1,43	1,10	1,26	1,14	2,01	1,38 \pm 0,33
4	1,35	1,31	0,98	1,07	1,19	1,60	1,25 \pm 0,22
6	1,15	1,36	0,90	0,96	1,20	1,41	1,16 \pm 0,21
8	0,97	1,19	0,78	0,78	1,01	1,28	1,00 \pm 0,21
10	0,82	1,08	0,69	0,65	0,83	1,18	0,88 \pm 0,21
12	0,70	0,74	0,62	0,56	0,83	0,95	0,73 \pm 0,14
24	0,37	0,35	0,27	0,21	0,40	0,42	0,34 \pm 0,08
36	0,22	0,30	0,16	0,17	0,25	0,23	0,22 \pm 0,05
48	0,13	sd	0,08	0,10	0,11	0,12	0,11 \pm 0,02
72	0,06	sd	0,03	0,05	0,06	0,12	0,06 \pm 0,03

sd: sin datos



Gráfica V.7.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacina tras la administración de una dosis de 5mg/kg intravenosa, en tekes de 10 días de edad

Tabla V.7.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg pv de marbofloxacin (modelo bicompartimental), en tekes de 10 días

Parámetro	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
A (µg/ml)	1,19	1,10	1,48	1,48	2,51	2,60	1,73 ± 0,66
B (µg/ml)	0,94	1,70	1,19	0,52	1,38	0,19	0,99 ± 0,56
α (h)	0,20	2,79	3,00	0,18	9,45	0,10	2,62 ± 3,61
β (h)	0,04	0,05	0,05	0,03	0,05	0,01	0,04 ± 0,02
AUC (µg·h/ml)	29,71	32,84	22,80	23,61	30,66	49,17	31,47 ± 9,55
t _½ K ¹⁰ (h)	9,67	8,14	5,91	8,17	5,46	12,23	8,26 ± 2,49
t _{½α} (h)	3,43	0,25	0,23	3,86	0,07	6,88	2,45 ± 2,76
t _{½β} (h)	17,56	13,23	12,94	20,36	15,31	86,90	27,72 ± 29,13
K ¹⁰ (h)	0,07	0,09	0,12	0,08	0,13	0,06	0,09 ± 0,03
K ¹² (h)	0,06	1,04	1,56	0,06	6,00	0,04	1,46 ± 2,31
K ²¹ (h)	0,11	1,72	1,37	0,07	3,37	0,01	1,11 ± 1,33
Volumen (L/kg)	2,35	1,79	1,87	2,50	1,29	1,79	1,93 ± 0,44
C ₀ (µg/ml)	2,13	2,80	2,67	2,00	3,89	2,79	2,71 ± 0,67
Cl (L/kg·h)	0,17	0,15	0,22	0,21	0,16	0,10	0,17 ± 0,04
AUMC (µg·h/ml)	632,76	619,39	416,66	497,36	671,56	3186,62	1004,06 ± 1073,47
MRT (h)	21,30	18,86	18,27	21,06	21,90	64,80	27,70 ± 18,23
Vd _{ss} (L/kg)	3,58	2,87	4,01	4,46	3,57	6,59	4,18 ± 1,29

Tabla V.8.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg pv de marbofloxacin (modelo no compartimental), en tekes de 10 días

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
C ₀ (µg/ml)	2,41	2,67	2,23	2,92	3,85	4,32	3,07 ± 0,84
AUC _{last} (µg·h/ml)	28,72	26,38	21,94	22,53	29,03	36,21	27,47 ± 5,23
t _{½λ} (h)	17,82	12,60	14,88	21,02	15,04	14,06	15,90 ± 3,03
AUC _∞ (µg·h/ml)	30,14	30,74	22,55	23,94	30,11	37,40	29,15 ± 5,35
V _z (L/kg)	4,27	2,96	4,76	6,33	3,60	2,71	4,11 ± 1,34
Cl (L/kg·h)	0,17	0,16	0,22	0,21	0,17	0,13	0,18 ± 0,03
MRT _{last} (h)	16,98	11,42	15,62	15,92	17,42	16,25	15,60 ± 2,16
Vd _{ss} (L/kg)	3,45	2,84	3,93	4,39	3,35	2,50	3,41 ± 0,69

V.3.3.- Estudio 3: administración IV de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes de 24 días de edad.

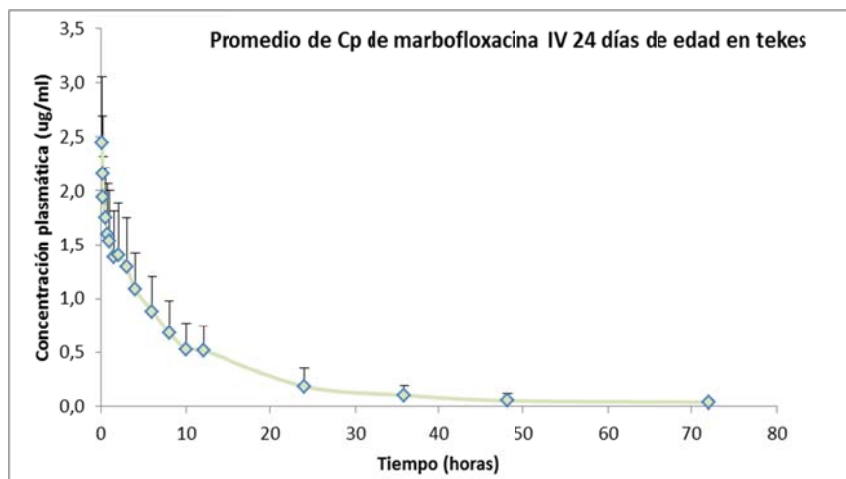
En la tabla V.9 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo, obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de marbofloxacin. En la gráfica V.8 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes. En las tablas V.10 y V.11 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a modelos bicompartimental y no compartimental respectivamente.

Resultados

Tabla V.9.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$) media y desviación estándar de marbofloxacin tras la administración IV, en tekes de 24 días de edad

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media \pm DE
0,08	2,43	3,20	1,31	3,39	2,79	1,56	2,45 \pm 0,85
0,17	2,04	sd	1,14	2,66	2,59	1,42	2,16 \pm 0,77
0,25	1,93	3,02	1,14	2,22	2,29	1,07	1,94 \pm 0,74
0,5	1,66	sd	1,08	1,85	sd	sd	1,75 \pm 0,59
0,75	1,58	2,24	1,01	1,59	1,97	1,20	1,60 \pm 0,46
1	1,47	sd	1,03	1,52	1,84	1,17	1,53 \pm 0,43
1,5	1,36	2,13	0,78	1,34	1,65	1,04	1,38 \pm 0,47
2	1,32	2,59	0,80	1,32	1,59	0,82	1,41 \pm 0,66
3	1,23	2,32	0,87	1,02	1,43	0,91	1,30 \pm 0,54
4	1,07	1,55	sd	1,07	1,26	0,81	1,08 \pm 0,30
6	1,03	1,15	0,61	0,87	0,96	0,67	0,88 \pm 0,21
8	0,71	0,86	0,61	0,68	0,83	0,39	0,68 \pm 0,17
10	0,68	0,63	0,40	0,59	0,47	0,37	0,52 \pm 0,13
12	0,45	0,77	0,33	0,48	0,68	0,38	0,52 \pm 0,17
24	0,14	0,33	0,10	0,17	0,22	0,14	0,18 \pm 0,08
36	0,07	0,24	0,05	0,06	0,12	0,06	0,10 \pm 0,07
48	0,03	0,11	0,03	0,04	0,06	0,03	0,05 \pm 0,03
72	sd	0,06	sd	sd	sd	0,01	0,04 \pm 0,03

sd: sin datos



Gráfica V.8.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacin tras la administración de una dosis de 5mg/kg intravenosa, en tekes de 24 días de edad

Tabla V.10.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg pv de marbofloxacin (modelo bicompartimental), en tekes de 24 días

Parámetro	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
A (µg/ml)	1,13	2,29	0,35	2,23	1,32	0,90	1,37 ± 0,76
B (µg/ml)	1,49	0,78	0,93	1,37	1,17	0,41	1,02 ± 0,40
α (h)	3,28	0,23	1,51	2,97	0,37	0,17	1,42 ± 1,41
β (h)	0,08	0,04	0,08	0,08	0,06	0,05	0,06 ± 0,02
AUC (µg·h/ml)	18,17	31,51	12,50	18,11	22,16	13,11	19,26 ± 6,99
$t_{1/2} K^{10}$ (h)	4,81	7,11	6,73	3,49	6,17	6,91	5,87 ± 1,43
$t_{1/2} \alpha$ (h)	0,21	3,06	0,46	0,23	1,87	3,98	1,64 ± 1,61
$t_{1/2} \beta$ (h)	8,30	18,94	9,12	8,81	11,06	13,35	11,60 ± 4,05
K^{10} (h)	0,14	0,10	0,10	0,20	0,11	0,10	0,13 ± 0,04
K^{12} (h)	1,31	0,08	0,37	1,67	0,11	0,04	0,60 ± 0,71
K^{21} (h)	1,90	0,08	1,11	1,18	0,21	0,09	0,76 ± 0,75
Volumen (L/kg)	1,91	1,63	3,88	1,39	2,01	3,80	2,44 ± 1,11
C ₀ (µg/ml)	2,62	3,07	1,29	3,59	2,49	1,32	2,40 ± 0,93
Cl (L/kg·h)	0,28	0,16	0,40	0,28	0,23	0,38	0,29 ± 0,09
AUMC (µg·h/ml)	213,41	629,27	161,58	220,91	306,18	182,38	285,62 ±
MRT (h)	11,75	19,97	12,92	12,20	13,82	13,91	14,09 ± 3,01
Vd _{ss} (L/kg)	3,23	3,17	5,17	3,37	3,12	5,30	3,89 ± 1,04

Tabla V.11.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg pv de marbofloxacin (modelo no compartimental), en tekes de 24 días

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
C ₀ (µg/ml)	2,84	3,28	1,48	4,20	2,98	1,70	2,75 ± 1,02
AUC _{last} (µg·h/ml)	17,37	31,14	11,87	17,42	21,67	13,45	18,82 ± 6,94
$t_{1/2} \lambda$ (h)	11,27	16,39	13,78	8,64	13,10	11,58	12,46 ± 2,62
AUC _∞ (µg·h/ml)	17,89	32,35	12,44	17,78	22,83	13,59	19,48 ± 7,30
V _z (L/kg)	4,54	3,66	7,99	3,51	4,14	6,14	5,00 ± 1,75
Cl (L/kg·h)	0,28	0,15	0,40	0,28	0,22	0,37	0,28 ± 0,09
MRT _{last} (h)	9,70	15,30	10,14	9,92	11,03	12,42	11,42 ± 2,15
Vd _{ss} (L/kg)	3,15	2,83	5,14	3,08	3,04	4,87	3,68 ± 1,03

V.3.4.- Estudio 4: administración IV de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes de 50 días de edad.

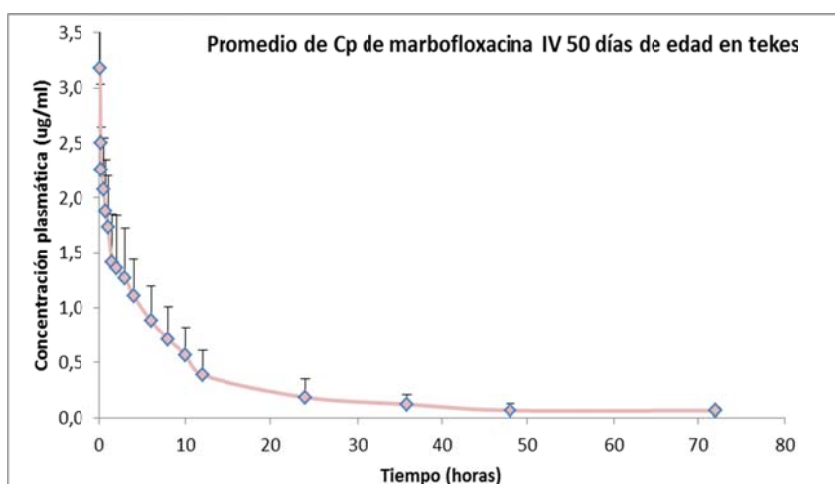
En la tabla V.12 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo, obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de marbofloxacin. En la gráfica V.9 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes. En las tablas V.13 y V.14 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a modelos bicompartimental y no compartimental respectivamente.

Resultados

Tabla V.12.- Concentración plasmática (µg/ml) media y desviación estándar de marbofloxacina tras la administración IV, en tekes de 50 días de edad

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
0,08	3,08	4,19	2,77	2,97	3,10	2,97	3,18 ± 0,51
0,17	2,62	2,74	2,00	2,83	3,05	1,75	2,50 ± 0,51
0,25	2,44	2,43	1,62	2,59	sd	1,61	2,26 ± 0,52
0,5	2,06	2,24	1,45	2,24	2,62	1,83	2,07 ± 0,40
0,75	2,26	2,03	1,52	1,99	1,93	1,54	1,88 ± 0,29
1	2,15	1,89	1,27	1,85	1,97	1,29	1,73 ± 0,37
1,5	1,68	1,58	1,04	1,61	1,33	1,25	1,41 ± 0,25
2	1,67	1,58	sd	1,39	1,51	1,03	1,36 ± 0,29
3	1,51	1,34	0,92	1,27	1,55	1,02	1,27 ± 0,26
4	1,30	1,23	0,73	1,18	1,31	0,90	1,11 ± 0,24
6	1,09	0,90	0,54	0,78	1,22	0,77	0,88 ± 0,24
8	0,97	0,76	0,39	0,61	0,96	0,57	0,71 ± 0,23
10	0,84	0,68	0,28	0,43	sd	0,48	0,57 ± 0,21
12	0,41	0,58	0,22	0,27	0,47	0,36	0,39 ± 0,13
24	0,24	0,19	0,06	sd	0,32	0,11	0,18 ± 0,10
36	0,13	0,11	sd	sd	sd	sd	0,12 ± 0,02
48	0,07	0,06	sd	sd	sd	sd	0,06 ± 0,01
72	0,06	sd	sd	sd	sd	sd	0,06

sd: sin datos



Gráfica V.9.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacina tras la administración de una dosis de 5mg/kg intravenosa, en tekes de 50 días de edad

Tabla V.13.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg pv de marbofloxacin (modelo bicompartimental), en tekes de 50 días

Parámetro	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
A (µg/ml)	2,23	2,14	1,36	1,20	1,80	6,67	2,57 ± 2,05
B (µg/ml)	0,22	1,45	1,22	2,07	1,66	1,53	1,36 ± 0,63
α (h)	0,14	1,38	2,12	2,71	1,77	18,96	4,51 ± 7,13
β (h)	0,02	0,07	0,13	0,16	0,07	0,11	0,10 ± 0,05
AUC (µg·h/ml)	26,78	21,88	9,87	13,32	23,76	13,69	18,22 ± 6,81
t _½ K ¹⁰ (h)	7,58	4,22	2,66	2,82	4,75	1,16	3,87 ± 2,22
t _{½α} (h)	4,79	0,50	0,33	0,26	0,39	0,04	1,05 ± 1,84
t _{½β} (h)	36,19	9,70	5,25	4,31	9,47	6,06	11,83 ± 12,14
K ¹⁰ (h)	0,09	0,16	0,26	0,25	0,15	0,60	0,25 ± 0,18
K ¹² (h)	0,04	0,69	0,92	0,85	0,81	14,85	3,03 ± 5,80
K ²¹ (h)	0,03	0,60	1,07	1,77	0,89	3,62	1,33 ± 1,26
Volumen (L/kg)	2,04	1,39	1,94	1,53	1,44	0,61	1,49 ± 0,51
C ₀ (µg/ml)	2,45	3,59	2,57	3,27	3,47	8,20	3,92 ± 2,14
Cl (L/kg·h)	0,19	0,23	0,51	0,38	0,21	0,37	0,31 ± 0,12
AUMC (µg·h/ml)	699,64	285,64	70,26	80,30	311,34	116,61	260,63 ± 238,93
MRT (h)	26,12	13,05	7,12	6,03	13,10	8,52	12,32 ± 7,39
Vd _{ss} (L/kg)	4,88	2,98	3,61	2,26	2,76	3,11	3,27 ± 0,90

Tabla V.14.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg pv de marbofloxacin (modelo no compartimental), en tekes de 50 días

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
C ₀ (µg/ml)	3,56	6,13	3,68	3,10	3,14	4,76	4,06 ± 1,18
AUC _{last} (µg·h/ml)	23,50	20,82	9,61	11,58	19,31	12,79	16,27 ± 5,67
t _{½λ} (h)	12,28	13,56	6,21	3,45	8,72	6,55	8,46 ± 3,86
AUC _∞ (µg·h/ml)	23,99	21,93	10,13	12,96	22,69	13,79	17,58 ± 5,95
V _z (L/kg)	3,69	4,46	4,42	1,92	2,77	3,43	3,45 ± 0,98
Cl (L/kg·h)	0,21	0,23	0,49	0,39	0,22	0,36	0,32 ± 0,12
MRT _{last} (h)	14,24	10,52	5,75	4,03	7,56	6,73	8,14 ± 3,68
Vd _{ss} (L/kg)	3,28	3,05	3,52	2,09	2,62	3,14	2,95 ± 0,52

V.3.5.- Estudio 5: administración IV de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes de 80 días de edad.

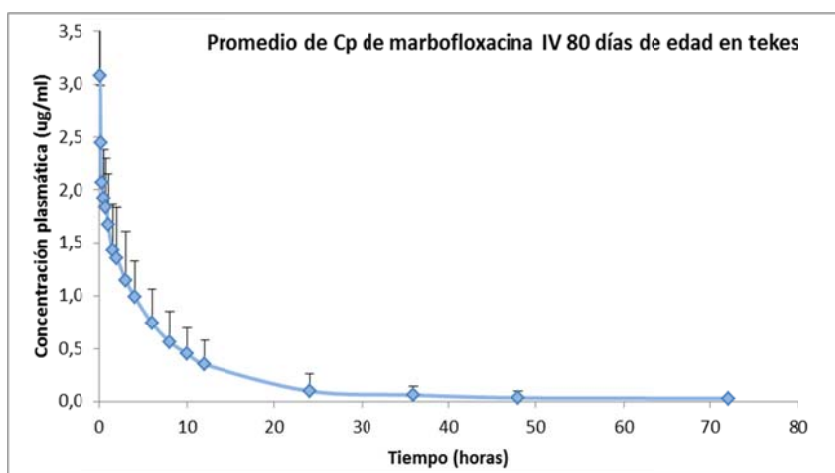
En la tabla V.15 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo, obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de marbofloxacin. En la gráfica V.10 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes. En las tablas V. 16 y V.17 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a modelos bicompartimental y no compartimental respectivamente.

Resultados

Tabla V.15.- Concentración plasmática (µg/ml) media y desviación estándar de marbofloxacin tras la administración IV en tekes de 80 días de edad

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
0,08	3,60	1,73	2,82	4,37	3,49	2,46	3,08 ± 0,94
0,17	2,93	1,71	1,98	3,37	2,65	2,05	2,45 ± 0,64
0,25	2,63	1,65	1,75	2,46	2,30	1,58	2,06 ± 0,46
0,5	2,48	1,67	1,38	2,18	2,30	1,52	1,92 ± 0,46
0,75	2,25	1,65	1,27	2,01	2,09	1,72	1,83 ± 0,36
1	2,08	1,55	1,01	1,72	2,00	1,68	1,68 ± 0,38
1,5	1,98	1,49	0,87	1,46	1,59	1,19	1,43 ± 0,38
2	1,76	1,31	0,85	1,27	1,54	1,42	1,36 ± 0,31
3	1,73	1,22	0,64	0,97	1,30	1,07	1,15 ± 0,36
4	1,44	0,97	0,49	0,83	1,15	1,10	1,00 ± 0,32
6	1,10	0,97	0,29	0,52	0,86	0,74	0,75 ± 0,30
8	0,88	0,72	0,18	0,34	0,61	0,67	0,57 ± 0,26
10	0,73	0,57	0,12	0,24	0,51	0,54	0,45 ± 0,23
12	0,61	0,49	0,07	0,16	0,40	0,38	0,35 ± 0,20
24	0,18	0,13	0,01	0,04	0,10	0,13	0,10 ± 0,07
36	0,10	0,06	sd	sd	0,04	0,04	0,06 ± 0,03
48	0,06	0,03	sd	sd	sd	0,02	0,03 ± 0,02
72	0,03	sd	sd	sd	sd	Sd	0,03

sd: sin datos



Gráfica V.10.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacin tras la administración de una dosis de 5mg/kg intravenosa, en tekes de 80 días de edad

Tabla V.16.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg pv de marbofloxacina (modelo bicompartimental), en tekes de 80 días

Parámetro	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
A (µg/ml)	2,43	1,44	1,89	2,48	1,49	1,53	1,88 ± 0,48
B (µg/ml)	0,31	0,30	1,22	1,32	1,45	1,52	1,02 ± 0,56
α (h)	0,16	0,13	3,90	1,32	0,72	6,53	2,13 ± 2,57
β (h)	0,03	0,05	0,23	0,16	0,10	0,10	0,11 ± 0,07
AUC (µg·h/ml)	24,05	16,79	5,85	10,36	16,19	15,74	14,83 ± 6,20
t _½ K ¹⁰ (h)	6,09	6,68	1,30	1,89	3,81	3,59	3,89 ± 2,16
t _{½α} (h)	4,28	5,37	0,18	0,52	0,96	0,11	1,90 ± 2,31
t _{½β} (h)	20,27	13,00	3,04	4,46	6,74	7,09	9,10 ± 6,45
K ¹⁰ (h)	0,11	0,10	0,53	0,37	0,18	0,19	0,25 ± 0,17
K ¹² (h)	0,03	0,01	1,93	0,55	0,23	3,13	0,98 ± 1,27
K ²¹ (h)	0,05	0,07	1,67	0,56	0,41	3,30	1,01 ± 1,27
Volumen (L/kg)	1,83	2,87	1,60	1,32	1,70	1,64	1,83 ± 0,54
C ₀ (µg/ml)	2,74	1,74	3,12	3,80	2,94	3,04	2,90 ± 0,67
Cl (L/kg·h)	0,21	0,30	0,85	0,48	0,31	0,32	0,41 ± 0,23
AUMC (µg·h/ml)	357,34	191,68	23,67	56,03	140,10	158,74	154,59 ± 117,95
MRT (h)	14,86	11,42	4,04	5,41	8,66	10,08	9,08 ± 3,97
Vd _{ss} (L/kg)	3,09	3,40	3,45	2,61	2,67	3,20	3,07 ± 0,36

Tabla V.17.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg pv de marbofloxacina (modelo no compartimental), en tekes de 80 días

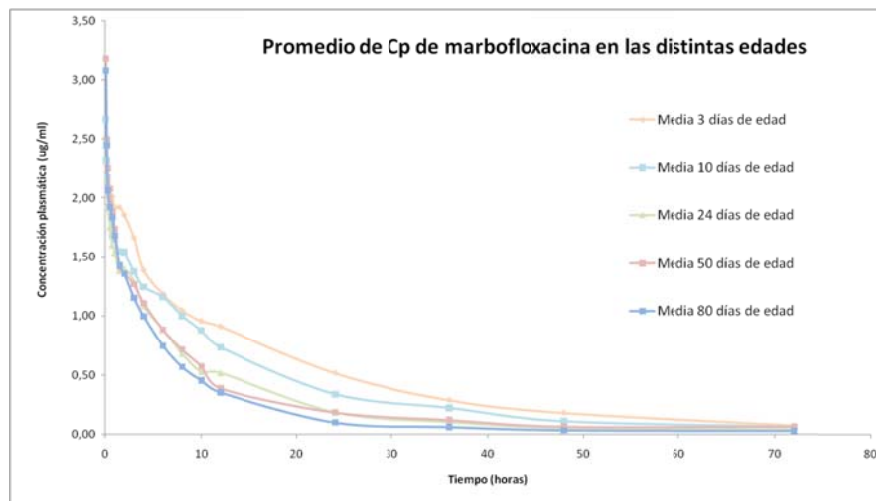
Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
C ₀ (µg/ml)	4,31	1,75	3,87	5,51	4,46	2,90	3,80 ± 1,32
AUC _{last} (µg·h/ml)	22,73	16,89	6,07	10,40	16,09	15,23	14,57 ± 5,73
t _{½λ} (h)	14,36	10,20	3,21	5,14	6,96	7,28	7,86 ± 3,95
AUC _∞ (µg·h/ml)	23,91	17,28	6,10	10,67	16,46	15,38	14,96 ± 6,08
V _z (L/kg)	4,33	4,26	3,80	3,47	3,05	3,41	3,72 ± 0,51
Cl (L/kg·h)	0,21	0,29	0,82	0,47	0,30	0,33	0,40 ± 0,22
MRT _{last} (h)	9,89	9,57	3,87	4,56	7,29	8,83	7,33 ± 2,59
Vd _{ss} (L/kg)	2,67	3,11	3,26	2,45	2,48	3,03	2,83 ± 0,35

A continuación y para su mejor comparación exponemos los datos promedios en relación con las diferentes edades en las que se realizaron los estudios

Resultados

Tabla V.18.- Media y desviación estándar de concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) de marbofloxacina tras la administración intravenosa (IV) en tekes

Tiempo (h)	Media \pm DE				
	3 días	10 días	24 días	50 días	80 días
0,08	2,67 \pm 0,61	2,67 \pm 0,55	2,45 \pm 0,85	3,18 \pm 0,51	3,08 \pm 0,94
0,17	2,28 \pm 0,54	2,32 \pm 0,54	1,97 \pm 0,68	2,50 \pm 0,51	2,45 \pm 0,64
0,25	2,10 \pm 0,38	2,17 \pm 0,44	1,94 \pm 0,74	2,14 \pm 0,48	2,06 \pm 0,46
0,5	2,09 \pm 0,48	1,97 \pm 0,46	1,53 \pm 0,40	2,07 \pm 0,40	1,92 \pm 0,46
0,75	2,01 \pm 0,47	1,68 \pm 0,40	1,60 \pm 0,46	1,88 \pm 0,29	1,83 \pm 0,36
1	1,92 \pm 0,47	1,65 \pm 0,40	1,40 \pm 0,32	1,73 \pm 0,37	1,68 \pm 0,38
1,5	1,92 \pm 0,43	1,54 \pm 0,32	1,38 \pm 0,47	1,41 \pm 0,25	1,43 \pm 0,38
2	1,85 \pm 0,48	1,54 \pm 0,35	1,41 \pm 0,66	1,44 \pm 0,25	1,36 \pm 0,31
3	1,66 \pm 0,45	1,38 \pm 0,33	1,30 \pm 0,54	1,27 \pm 0,26	1,15 \pm 0,36
4	1,39 \pm 0,34	1,25 \pm 0,22	1,15 \pm 0,27	1,11 \pm 0,24	1,00 \pm 0,32
6	1,19 \pm 0,32	1,16 \pm 0,21	0,88 \pm 0,21	0,88 \pm 0,24	0,75 \pm 0,30
8	1,05 \pm 0,29	1,00 \pm 0,21	0,68 \pm 0,17	0,71 \pm 0,23	0,57 \pm 0,26
10	0,95 \pm 0,25	0,88 \pm 0,21	0,52 \pm 0,13	0,54 \pm 0,22	0,45 \pm 0,23
12	0,91 \pm 0,23	0,73 \pm 0,14	0,52 \pm 0,17	0,39 \pm 0,13	0,35 \pm 0,20
24	0,51 \pm 0,17	0,34 \pm 0,08	0,18 \pm 0,08	0,18 \pm 0,10	0,10 \pm 0,07
36	0,29 \pm 0,09	0,22 \pm 0,05	0,10 \pm 0,07	0,12 \pm 0,02	0,06 \pm 0,03
48	0,18 \pm 0,06	0,11 \pm 0,02	0,05 \pm 0,03	0,06 \pm 0,01	0,03 \pm 0,02
72	0,07 \pm 0,03	0,06 \pm 0,03	0,04 \pm 0,03	0,06	0,03



Gráfica V.11.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacina tras la administración de una dosis de 5mg/kg intravenosa en tekes, en las diferentes edades.

Tabla V.19.- Media y desviación estándar de parámetros farmacocinéticos, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de pv de marbofloxacin (modelo bicompartimental) según edad

Parámetro	Media ± DE				
	3 días	10 días	24 días	50 días	80 días
A (µg/ml)	1,44 ± 0,51	1,73 ± 0,66	1,37 ± 0,76	2,57 ± 2,05	1,88 ± 0,48
B (µg/ml)	0,92 ± 0,60	0,99 ± 0,56	1,02 ± 0,40	1,36 ± 0,63	1,02 ± 0,56
α (h)	0,46 ± 0,50	2,62 ± 3,61	1,42 ± 1,41	4,51 ± 7,13	2,13 ± 2,57
β (h)	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,10 ± 0,05	0,11 ± 0,07
AUC (µg·h/ml)	36,84 ± 9,29	31,47 ± 9,55	19,26 ± 6,99	18,22 ± 6,81	14,83 ± 6,20
t _½ K ¹⁰ (h)	11,02 ± 2,58	8,26 ± 2,49	5,87 ± 1,43	3,87 ± 2,22	3,89 ± 2,16
t _½ α (h)	4,60 ± 4,54	2,45 ± 2,76	1,64 ± 1,61	1,05 ± 1,84	1,90 ± 2,31
t _½ β (h)	24,48 ± 11,35	27,72 ± 29,13	11,60 ± 4,05	11,83 ± 12,14	9,10 ± 6,45
K ¹⁰ (h)	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,03	0,13 ± 0,04	0,25 ± 0,18	0,25 ± 0,17
K ¹² (h)	0,15 ± 0,17	1,46 ± 2,31	0,60 ± 0,71	3,03 ± 5,80	0,98 ± 1,27
K ²¹ (h)	0,28 ± 0,34	1,11 ± 1,33	0,76 ± 0,75	1,33 ± 1,26	1,01 ± 1,27
Volumen (L/kg)	2,21 ± 0,48	1,93 ± 0,44	2,44 ± 1,11	1,49 ± 0,51	1,83 ± 0,54
C ₀ (µg/ml)	2,36 ± 0,56	2,71 ± 0,67	2,40 ± 0,93	3,92 ± 2,14	2,90 ± 0,67
Cl (L/kg·h)	0,14 ± 0,03	0,17 ± 0,04	0,29 ± 0,09	0,31 ± 0,12	0,41 ± 0,23
AUMC (µg·h/ml)	927,89 ± 369,03	1004,06 ± 1073,47	285,62 ± 175,48	260,63 ± 238,93	154,59 ± 117,95
MRT (h)	Media ± DE	27,70 ± 18,23	14,09 ± 3,01	12,32 ± 7,39	9,08 ± 3,97
Vd _{ss} (L/kg)	1,44 ± 0,51	4,18 ± 1,29	3,89 ± 1,04	3,27 ± 0,90	3,07 ± 0,36

Tabla V.20.- Media y desviación estándar de parámetros farmacocinéticos, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de pv de marbofloxacin (modelo no compartimental) según edad

Parámetro	Media ± DE				
	3 días	10 días	24 días	50 días	80 días
C ₀ (µg/ml)	3,00 ± 0,55	3,07 ± 0,84	2,75 ± 1,02	4,06 ± 1,18	3,80 ± 1,32
AUC _{last} (µg·h/ml)	34,22 ± 8,14	27,47 ± 5,23	18,82 ± 6,94	16,27 ± 5,67	14,57 ± 5,73
t _½ λ(h)	17,84 ± 3,69	15,90 ± 3,03	12,46 ± 2,62	8,46 ± 3,86	7,86 ± 3,95
AUC _∞ (µg·h/ml)	36,88 ± 8,73	29,15 ± 5,35	19,48 ± 7,30	17,58 ± 5,95	14,96 ± 6,08
V _z (L/kg)	3,64 ± 1,11	4,11 ± 1,34	5,00 ± 1,75	3,45 ± 0,98	3,72 ± 0,51
Cl (L/kg·h)	0,14 ± 0,03	0,18 ± 0,03	0,28 ± 0,09	0,32 ± 0,12	0,40 ± 0,22
MRT _{last} (h)	17,06 ± 2,92	15,60 ± 2,16	11,42 ± 2,15	8,14 ± 3,68	7,33 ± 2,59
Vd _{ss} (L/kg)	3,08 ± 0,64	3,41 ± 0,69	3,68 ± 1,03	2,95 ± 0,52	2,83 ± 0,35

V.3.6.- Estudio 6: administración SC de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes de 35 días de edad.

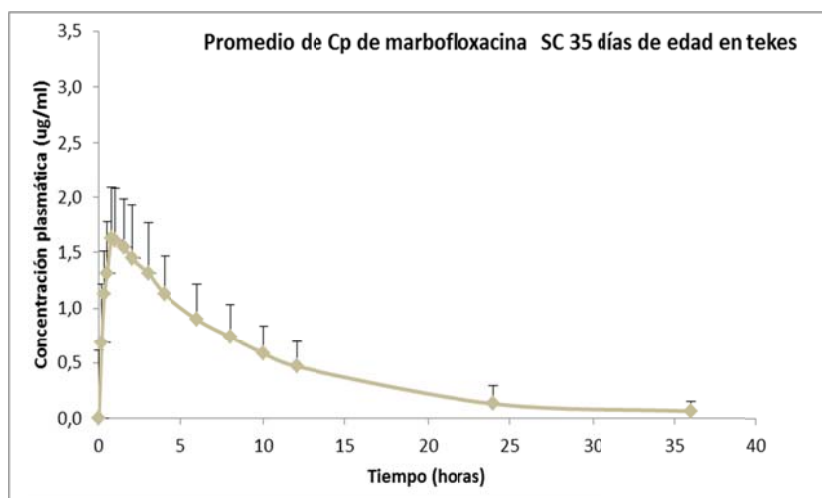
En la tabla V.21 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo, obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de marbofloxacin. En la gráfica V.12 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes. En la tabla V.22 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a un modelo no compartimental.

Resultados

Tabla V.21.- Concentración plasmática (µg/ml) media y desviación estándar de marbofloxacin tras la administración SC, en tekes de 35 días de edad

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
0,17	0,67	1,07	0,25	0,50	0,81	0,79	0,68 ± 0,28
0,33	1,15	1,46	0,58	1,18	1,38	1,02	1,13 ± 0,32
0,5	1,39	1,66	0,60	1,41	1,56	1,28	1,32 ± 0,38
0,75	2,14	1,87	0,83	1,76	1,92	1,23	1,62 ± 0,49
1	2,01	1,76	0,91	1,85	1,97	1,16	1,61 ± 0,46
1,5	1,76	1,63	1,24	1,55	1,90	1,22	1,55 ± 0,27
2	1,65	1,39	1,23	1,44	1,78	1,18	1,45 ± 0,23
3	1,34	1,16	1,23	1,47	1,63	1,04	1,31 ± 0,22
4	1,20	1,08	1,04	1,08	1,46	0,92	1,13 ± 0,19
6	1,00	0,87	0,82	0,74	1,14	0,79	0,90 ± 0,15
8	0,79	0,66	0,66	0,61	0,93	sd	0,73 ± 0,13
10	0,65	0,56	0,40	0,49	0,68	0,73	0,58 ± 0,12
12	0,54	0,46	0,30	sd	0,58	0,61	0,50 ± 0,12
24	0,18	0,15	0,05	0,13	0,18	0,08	0,13 ± 0,06
36	0,10	0,07	0,02	0,06	0,10	0,03	0,06 ± 0,03

sd: sin datos



Gráfica V.12.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacin tras la administración de una dosis de 5mg/kg subcutánea, en tekes de 35 días de edad

Tabla V.22.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg pv de marbofloxacin (modelo no compartimental), en tekes de 35 días

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media ± DE
$T_{max}(h)$	0,75	0,75	1,50	1,00	1,00	0,50	0,92 ± 0,34
C_0 (µg/ml)	2,14	1,87	1,24	1,85	1,97	1,28	1,73 ± 0,37
AUC_{last}	16,83	14,88	11,30	14,23	18,66	14,53	15,07 ± 2,50
$t_{1/2\lambda}(h)$	7,48	7,57	4,55	7,26	7,38	4,22	6,41 ± 1,58
AUC_{∞}	18,73	16,57	11,61	15,61	20,62	15,01	16,36 ± 3,12
V_z (L/kg)	2,88	3,29	2,82	3,35	2,58	2,03	2,83 ± 0,49
Cl (L/kg·h)	0,27	0,30	0,43	0,32	0,24	0,33	0,32 ± 0,07
MRT_{last} (h)	7,39	7,25	6,53	6,74	7,31	7,63	7,14 ± 0,42
Vd_{ss} (L/kg)	10,17	10,06	7,18	9,19	9,91	8,34	9,14 ± 1,18

En la tabla V.23 se presentan los resultados obtenidos para la biodisponibilidad de la vía SC de la marbofloxacin, para cada edad en estudio.

Tabla V.23.- Biodisponibilidad de marbofloxacin, calculada para tekes de distintas edades

	3 días	10 días	24 días	50 días	80 días
F %	44,35	56,13	83,98	93,06	109,33

V.4.- Resultados estadísticos

En la tabla V.24 se pueden observar los resultados de la comparación estadística de los distintos valores obtenidos de los parámetros farmacocinéticos.

En primer lugar se comprobó la normalidad y la homocedasticidad de los datos, para luego continuar un ANOVA con el test de comparaciones múltiples de Bonferroni para los parámetros que presentaron esas propiedades: C_0 , AUC_{last} , $t_{1/2}$, AUC_{∞} , V_z , MRT_{last} y MRT_{∞} .

Posteriormente se procedió a un análisis de Kruskal Wallis para los parámetros no paramétricos, como el aclaramiento (Cl) que no presentó una distribución normal y para el volumen de distribución (V_{ss}) que es heterocedástico.

Para la vía intravenosa se compararon los tekes de distintas edades entre sí.

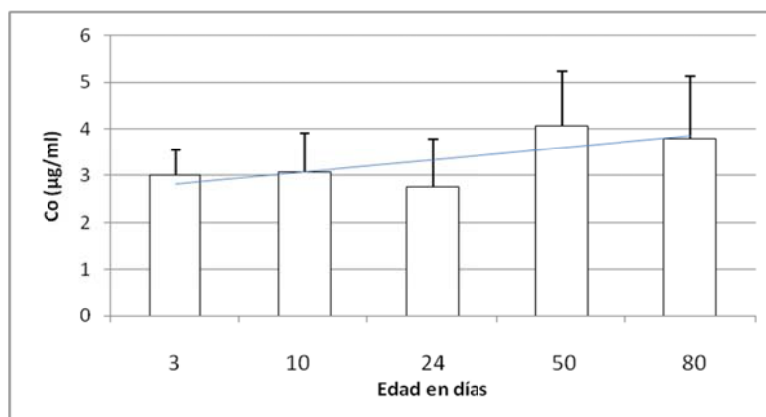
Resultados

Tabla V.24.- Comparación estadística de los principales parámetros farmacocinéticos obtenidos tras administración intravenosa (modelo no compartimental)

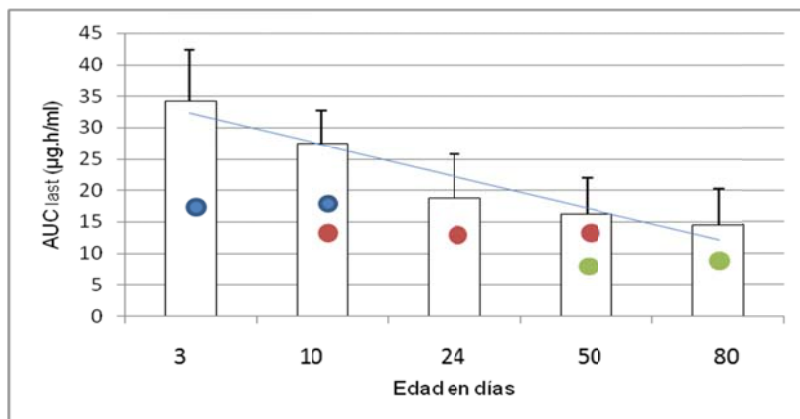
PARÁMETRO	GRUPO (EDAD - DÍAS)				
	3	10	24	50	80
C ₀ (µg/ml)	3,00 ± 0,55	3,07 ± 0,84	2,75 ± 1,02	4,06 ± 1,18	3,80 ± 1,32
AUC _{last} (µg·h/ml)	34,22 ± 8,14 ^a	27,47 ± 5,23 ^{a, b}	18,82 ± 6,94 ^{b, c}	16,27 ± 5,67 ^{b, c}	14,57 ± 5,73 ^c
t _{1/2 λ} (h)	17,84 ± 3,69 ^a	15,90 ± 3,03 ^a	12,46 ± 2,62 ^{a, b}	8,46 ± 3,86 ^b	7,86 ± 3,95 ^b
AUC _∞ (µg·h/ml)	36,88 ± 8,73 ^a	29,15 ± 5,35 ^{a, b}	19,48 ± 7,30 ^{b, c}	17,58 ± 5,95 ^{b, c}	14,96 ± 6,08 ^c
V _z (L/kg)	3,64 ± 1,11	4,11 ± 1,34	5,00 ± 1,75	3,45 ± 0,98	3,72 ± 0,51
Cl (L/kg·h)	0,14 ± 0,03 ^a	0,18 ± 0,03 ^{a, b}	0,28 ± 0,09 ^{b, c}	0,32 ± 0,12 ^c	0,40 ± 0,22 ^c
MRT _{last} (h)	17,06 ± 2,92 ^a	15,60 ± 2,16 ^{a, b}	11,42 ± 2,15 ^{b, c}	8,14 ± 3,68 ^c	7,33 ± 2,59 ^c
MRT _∞ (h)	21,89 ± 2,28 ^a	19,31 ± 1,56 ^a	13,40 ± 2,65 ^b	10,37 ± 3,96 ^b	8,37 ± 3,33 ^b
V _{dss} (L/kg)	3,08 ± 0,64	3,41 ± 0,69	3,68 ± 1,03	2,95 ± 0,52	2,83 ± 0,35

Letra común en los distintos grupos etarios indica que las medias no son significativamente diferentes (p < 0,05).

En las gráficas V.13 a la V.21 se pueden observar los valores de las medias (± DE) de los diferentes parámetros farmacocinéticos obtenidos para los tekes de 3, 10, 24, 50 y 80 días de edad. Además en cada gráfica se trazó la recta de regresión que señala la tendencia de cada parámetro a medida que el animal crece.

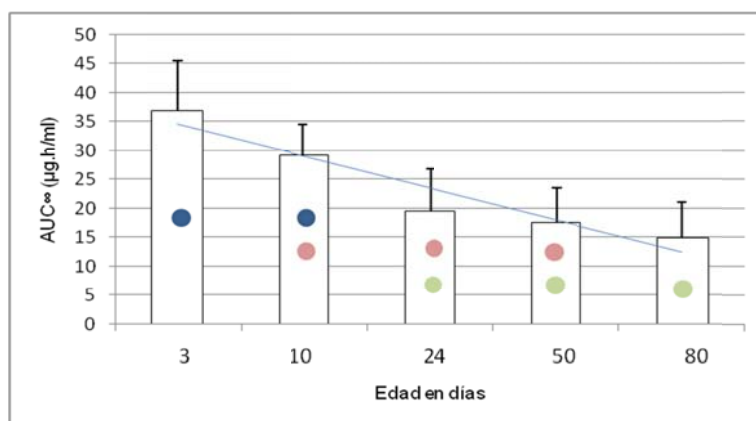


Gráfica V.13.- Comparaciones por edad de la concentración inicial (C₀) de la marbofloxacina en tekes (p < 0,05)



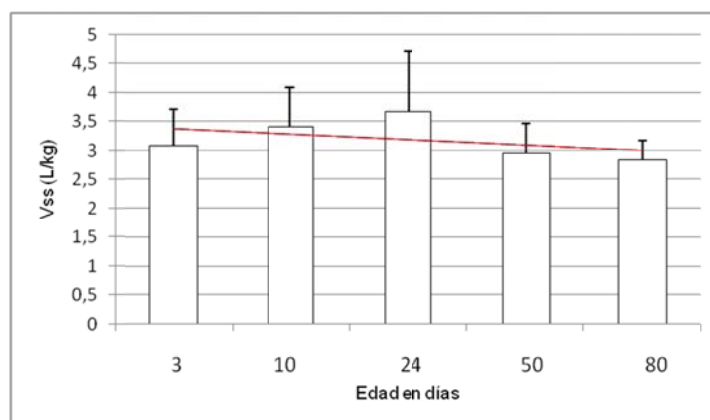
Gráfica V.14.- Comparaciones por edad del área bajo la curva (AUC_{last}) de la marbofloxacina en tekes ($p < 0,05$)

Los grupos etarios que se señalan con el punto del mismo color indican que no existen diferencias significativas entre los mismos.



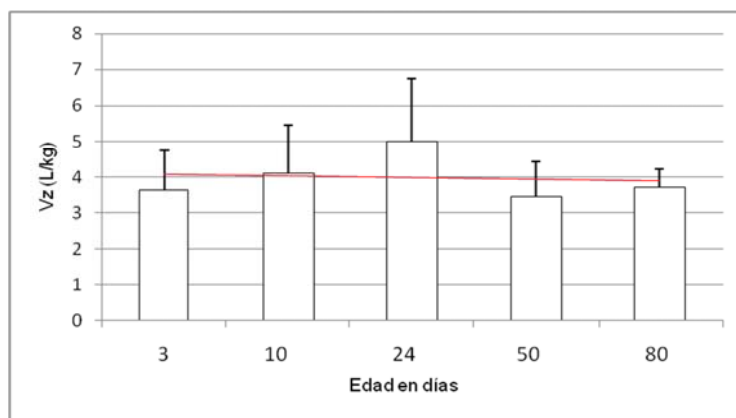
Gráfica V.15.- Comparaciones por edad del área bajo la curva (AUC_{∞}) de la marbofloxacina en tekes ($p < 0,05$)

Los grupos etarios que se señalan con el punto del mismo color indican que no existen diferencias significativas entre los mismos.

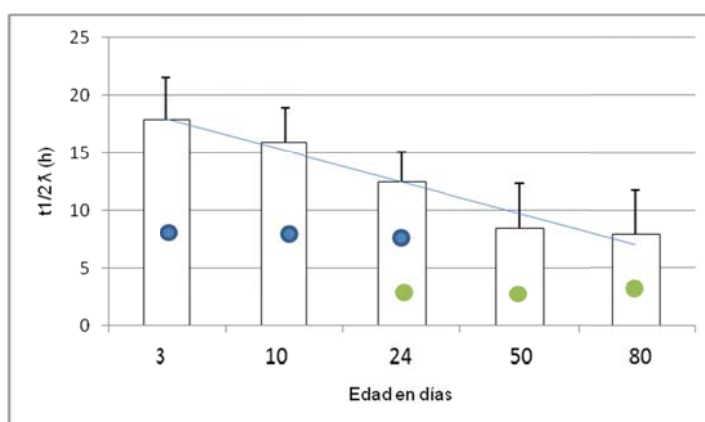


Gráfica V.16.- Comparaciones por edad del volumen de distribución en estado estacionario ($V_{d_{ss}}$) de la marbofloxacina en tekes ($p < 0,05$)

Resultados

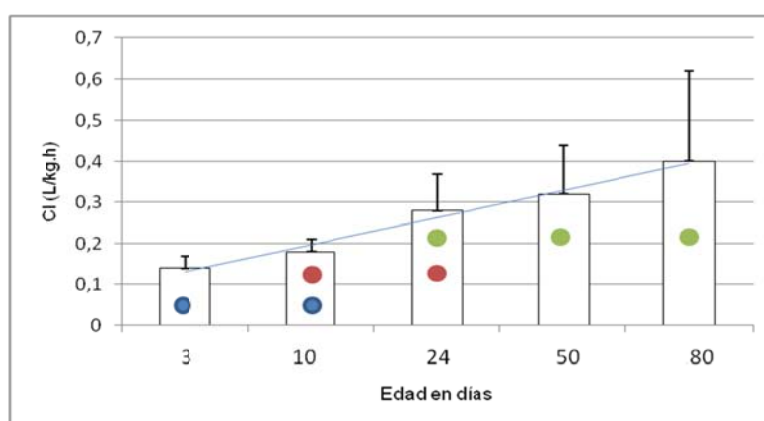


Gráfica V.17.- Comparaciones por edad de volumen de distribución (Vz) de la marbofloxacin en tekes ($p < 0,05$)



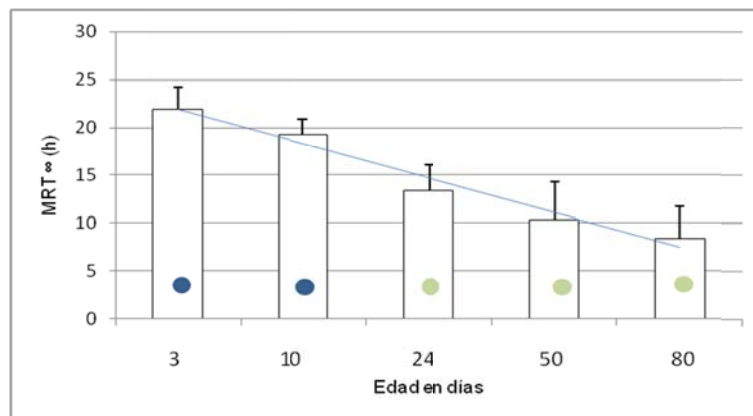
Gráfica V.18.- Comparaciones por edad de la semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$) de la marbofloxacin en tekes ($p < 0,05$)

Los grupos etarios que se señalan con el punto del mismo color indican que no existen diferencias significativas entre los mismos.



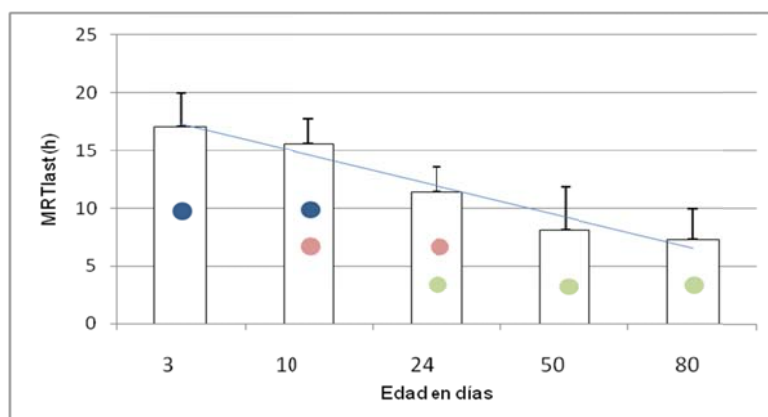
Gráfica V.19.- Comparaciones por edad del aclaramiento en suero (Cl) de la marbofloxacin en tekes ($p < 0,05$)

Los grupos etarios que se señalan con el punto del mismo color indican que no existen diferencias significativas entre los mismos.



Gráfica V.20.- Comparaciones por edad del tiempo medio de residencia al infinito (MRT_{∞}) de la marbofloxacin en tekes ($p < 0,05$)

Los grupos etarios que se señalan con el punto del mismo color indican que no existen diferencias significativas entre los mismos



Gráfica V.21.- Comparaciones por edad del tiempo medio de residencia último (MRT_{last}) de la marbofloxacin en tekes ($p < 0,05$)

Los grupos etarios que se señalan con el punto del mismo color indican que no existen diferencias significativas entre los mismos.

V.5.- Integración farmacocinética/farmacodinámica

En la siguiente tabla se muestran los valores de MIC obtenidos en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en llamas.

Tabla V 25.- Valores de MIC de marbofloxacina, para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia Coli* aislados de llamas

<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia Coli</i>	
Cepa	Valor MIC (µg/ml)	Cepa	Valor MIC (µg/ml)
S1	0,500	E1	0,015
S2	0,125	E2	0,031
S3	0,031	E3	0,015
S4	0,125	E4	0,015
S5	0,250	E5	0,031
S6	0,063	E6	0,015
S7	0,250	E7	0,063
S8	0,125	E8	0,031
S9	0,063	E9	0,015
S10	0,125	E10	0,063
S11	0,125	E11	0,031
S12	0,125	E12	< 0,015
S13	0,250	E13	0,015
S14	0,125	E14	0,031
S15	0,031	E15	< 0,015
S16	0,250	E16	0,031
S17	0,125	E17	0,015
S18	0,250	E18	0,015
S19	0,125	E19	0,031
S20	0,125	E20	0,015
S21	0,063	E21	0,015
S22	0,500	E22	0,031
S23	0,125	E23	0,015
S24	0,250	E24	0,031
S25	0,250	E25	0,031
S26	0,063	E26	0,015
S27	0,250	E27	0,031
S28	0,125	E28	0,015
S29	0,125	25922	0,015
S30	0,250		
S31	0,250		
S32	0,125		
S33	0,125		
S34	0,125		
S35	0,250		
29213	0,500		

Para cepas de *Staphylococcus aureus* la MIC₅₀ fue 0,125 µg/ml y la MIC₉₀ 0,250 µg/ml.

Para cepas de *Escherichia Coli* la MIC₅₀ fue 0,015 µg/ml y la MIC₉₀ 0,031 µg/ml.

Con esos resultados se realizaron los cálculos para estimar los índices de eficacia para cada cepa de cada una de las bacterias, a diferentes edades.

Tabla V.26.- Determinación de los índices de eficacia para *Staphylococcus aureus* (media y DE)

Vía	IV					SC
Edad	3 días	10 días	24 días	50 días	80 días	35 días
AUC _{0-∞} /MIC ₉₀	148 ± 35	117 ± 21	78 ± 29	70 ± 24	60 ± 24	65 ± 12
C _{max} /MIC ₉₀	12 ± 2	12 ± 3	11 ± 4	16 ± 5	15 ± 5	7 ± 1

Tabla V.27.- Determinación de los índices de eficacia para *Escherichia Coli* (media y DE)

Vía	IV					SC
Edad	3 días	10 días	24 días	50 días	80 días	35 días
AUC _{0-∞} /MIC ₉₀	1229 ± 291	972 ± 178	649 ± 243	586 ± 198	499 ± 203	545 ± 104
C _{max} /MIC ₉₀	100 ± 18	102 ± 28	92 ± 34	135 ± 39	127 ± 44	58 ± 12

VI.- DISCUSIÓN

VI.1.- DISCUSIÓN DEL MATERIAL

V.1.1.- Material biológico

Los animales objeto de la investigación fueron seis tekes nacidos en el campo experimental de la Universidad Católica de Córdoba, dos de ellos nacidos en el año 2010 y los cuatro restantes en el año 2011, durante los meses de otoño (abril-mayo) en ambos años. La utilización de tekes nacidos en dos años sucesivos se debió a que primó el interés en conseguir que todos los animales nacieran en la misma época asegurándonos de esta forma que todos se encontraran en buenas condiciones y con el peso adecuado, intentando minimizar aquellos factores que pudieran influir en la variabilidad individual como el peso, la temperatura ambiente y la alimentación (los animales permanecían junto con el rebaño en todo momento, recibiendo como alimento la leche de la madre y el pasto natural del monte al que se los conducía junto con sus madres) durante las distintas etapas del estudio; además esta época se considera la más adecuada para el parto encontrándose las madres en buen estado (posterior lactación). En la tabla V.1. se puede apreciar que los animales utilizados presentaron homogeneidad en los pesos y curvas de crecimiento, sin que se puedan establecer diferencias de peso entre machos y hembras.

No se realizó diferenciación por sexos (dos hembras y cuatro machos) debido a que inicialmente no es un factor influyente en la farmacocinética de las fluoroquinolonas (Schneider y col., 2014; Granneman y Guay, 1991; Nakagawa y col., 1995; Efthymiopoulos y col., 1997).

En cuanto a la cantidad de animales utilizados, se consideró que un número de seis individuos permite llevar a cabo un estudio farmacocinético válido tal como indican diversos autores que han estudiado el comportamiento de marbofloxacina en diferentes especies (Albarellos y col., 2005; Bousquet-Melou y col., 2002; Belew y col., 2015), pues proporciona un caudal de datos que da lugar a un análisis estadístico fiable.

Por otra parte, se tuvieron en cuenta consideraciones éticas referentes al hecho de someter al menor número posible de individuos a acciones que pudieran resultarles estresantes (Pardo, A., 2005).

Para la selección y manejo del material, se siguieron las recomendaciones de la “*Guidelines for the conduct of pharmacokinetic studies in target animal species*” (EMA/CVMP/133/99-FINAL) y “*Guidance for Industry: Target Animal Safety for Veterinary Pharmaceutical Products*” (VICH GL43, July 2008).

Para el diseño experimental de los estudios de marbofloxacina intravenosa y subcutánea se utilizó un diseño paralelo, modelo recomendado según las normas establecidas por la EMA (EMA/CVMP/016/00-Rev.2 Committee for Medicinal Products for Veterinary Use) para estudios con animales en fase de desarrollo, fármacos con largas semividas o que se comportan como inductores enzimáticos.

VI.1.2.- Fármacos y productos biológicos utilizados, reactivos e instrumentación

La especialidad farmacéutica (Marbocyl® 10% solución inyectable) se utilizó siguiendo las indicaciones del fabricante referidas al almacenamiento, transporte y manipulación, considerando en todo momento su fotosensibilidad, tanto en la administración del fármaco y la extracción de sangre como en el manejo de las muestras en los laboratorios de farmacología de la UCC y de la UCM.

En el equipamiento utilizado para la detección y procesamiento de las muestras, se realizaron periódicamente controles de mantenimiento de los equipos, calibrado y limpieza, según las indicaciones de las “Buenas Prácticas de Laboratorio” (GLP: DEPC 2004/9/EC 11 y GCP: CVMP/VICH/595/98-FINAL, 1998).

VI.2.- DISCUSIÓN DEL MÉTODO

VI.2.1.- Protocolos de administración del fármaco, obtención y acondicionamiento de las muestras

El volumen de sangre extraído en las primeras 24 h (3 ml/16 extracciones), no superó el 1% del peso del animal, tal y como recomiendan diversos autores (Fudge, A.M. 1999; Morton y col., 1993)

La dosis de marbofloxacin elegida para realizar este estudio fue de 5 mg/kg, una dosis mayor a la recomendada por el laboratorio que lo comercializa y superior a la utilizada en una gran cantidad de estudios sobre esta molécula en especies rumiantes (Lüders y col., 2012; García-Montijano y col., 2001; Waxman y col., 2004), pero menor a la utilizada en cerdos (8 mg/kg) por Schneider y col. (2014) o a la recomendada por el laboratorio (dosis única) para el tratamiento de infecciones respiratorias bovinas y mastitis e infecciones respiratorias porcinas y síndrome mastitis metritis agalaxia (forma del síndrome de disgalactia posparto, SDPP) causada por cepas de *E. coli*. Esta decisión estuvo basada en los mismos criterios que Rubio, S. (2011) siguió, referidos a la obtención de concentraciones plasmáticas durante al menos 3 semividas, para así poder definir los procesos de eliminación (Volume 8: Notice to applicants and Guideline, 2005), debido al desconocimiento del comportamiento farmacocinético de la molécula en animales jóvenes. Por otro lado, al existir estudios previos realizados en llamas adultas, la administración de 5 mg/kg nos permitía hacer un estudio comparativo del comportamiento cinético de la marbofloxacin entre animales adultos y teckes.

En cuanto a la concentración de marbofloxacin se utilizó una solución inyectable al 10% (Marbocyl® 10%). El motivo para adoptar dicha concentración residía en que con ella el volumen a administrar a cada animal según peso era mucho menor al necesario con una concentración al 2%. Si consideramos que a los tres días de edad los teckes tienen un peso corporal medio de 11 kg, con un producto al 10 % la administración total es de 0,55 ml, mientras que con uno al 2% sería de 2,75 ml. De igual forma, para el peso que los animales alcanzan a los 80 días de edad (alrededor de 30 kg) se debía

administrar 1,5 ml con una formulación al 10%, y 7,5 ml con una concentración al 2%. Por otro lado, al utilizar siempre la misma especialidad al 10% evitamos los posibles cambios de potencia que pudieran modificar el comportamiento farmacocinético (Sánchez-Bruni y col., 2005)

Se eligió la vía IV por considerarse la más indicada para definir el comportamiento cinético de los fármacos al evitar procesos de absorción, a pesar de no ser la más adecuada en animales de corta edad desde un punto de vista clínico, y la vía SC en el caso de animales de 35 días, puesto que es la más cómoda de utilizar para el tratamiento de enfermedades en teques a esa edad, además, de que la biodisponibilidad obtenida por esta vía en llamas adultas fue muy elevada, prácticamente del 100%. A pesar de que se han descrito reacciones inflamatorias locales tras la administración intramuscular y subcutánea, en algunas especies (ficha técnica del producto Marbocyl[®], del laboratorio Vetoquinol), en llamas adultas no se han observado daños locales (Rubio-Langre y col., 2012). Por otra parte, a las 12 horas de la administración subcutánea se obtuvieron valores de CPK inferiores a los obtenidos en el mismo período tras una administración intramuscular (Rubio-Langre y col., 2012). Por último, la administración SC constituye una vía que minimiza los residuos del fármaco en la carne, en su punto de inyección, frente a la administración IM.

Para la toma de muestras se siguió un protocolo que procurara abarcar todo el período en el que se pueden detectar concentraciones plasmáticas de la molécula, hasta valores por debajo del límite de cuantificación. A fin de poder definir los procesos de eliminación, y tal como lo recomiendan las normativas de regulación de medicamentos en la Unión Europea, de “al menos, durante tres semividas de eliminación” (EudraLex Volume 8, 2005; Guideline on the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products 11 April 2011 EMA/CVMP/016/00-Rev.2 Committee for Medicinal Products for Veterinary Use CVMP), y como han realizado varios autores para fluoroquinolonas (Carretero y col., 2002; de Lucas y col., 2004; García-Montijano y col., 2007), y para marbofloxacin en particular (Rubio-Langre y col., 2012; Díaz, D., 2012). igualmente se siguieron las recomendaciones de las Buenas Prácticas Clínicas (GCP: CVMP/VICH/595/98-FINAL, 1998) y de Laboratorio (GLP: Community legislation in Directives 87/18/EEC13, 1986 y Community legislation in Directives 88/320/EEC14, 1988).

VI.2.2.- Metodología analítica

El método utilizado en nuestro trabajo ha sido la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) basado en el principio de retención selectiva, identificando y cuantificando los elementos por separado. Esa separación es posible por las diferencias en el coeficiente de partición; la cromatografía líquida de alta eficacia separa los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica. Este método aprovecha dos propiedades moleculares de las quinolonas que ya mencionamos anteriormente, como son la elevada absorbancia de rayos UV y las buenas condiciones cromatográficas. Se seleccionó una longitud de onda de 295 nm (máxima absorbancia obtenida para

marbofloxacina) por lo que obtuvimos una buena resolución de los picos y la separación frente al solvente y patrón interno. Nuestro porcentaje de recuperación fue de $91,73 \pm 4,57 \%$, similar al obtenido por Fernández-Palacios, R., (2014) (90,03- 92,50%) y Sidhu y col., (2010) ($95,2 \pm 15,6$).

Como en la cromatografía líquida de alta eficacia pueden producirse variaciones durante los procesos de extracción, desecación y detección, utilizamos la ofloxacina como patrón interno, para poder observar si se presentaban alteraciones en el método. Se eligió esta molécula porque tiene características físico-químicas muy similares a la marbofloxacina y, durante todo el estudio, presentó una correcta absorbancia, unida a una adecuada separación de las sustancias según su tiempo de retención (de $6,66 \pm 0,08$ para la marbofloxacina y de $8,15 \pm 0,12$ para la ofloxacina). Una situación semejante obtuvo Díaz, D., (2012) con valores promedio de $6,50 \pm 0,30$ min para marbofloxacina y de $7,95 \pm 0,30$ min para ofloxacina en vacas, así como Sidhu y col., (2010) en su estudio en ovejas (8 y 10 min para marbofloxacina y ofloxacina, respectivamente) y Lüders, C., (2014) ($6,66 \pm 0,08$ min para la marbofloxacina y de $8,15 \pm 0,12$ min para la ofloxacina)

En el presente estudio se ensayó la técnica de HPLC empleada por Rubio-Langre y col., (2012) en sus estudios de farmacocinética de la marbofloxacina en llamas adultas. Lo que facilitaba establecer comparaciones entre los resultados obtenidos en ambas investigaciones

Otro método cromatográfico utilizado en estos estudios, es la cromatografía de gases, que trabaja con derivados volátiles y necesita exponer las moléculas a altas temperaturas. Aunque su uso estaría limitado para las quinolonas debido a que son compuestos muy polares y no volátiles, que se descomponen a altas temperaturas (Hassouan, M.K., 2006).

Existen otros métodos de análisis, como los métodos espectrofotométricos, basados en la gran absorción de radiación ultravioleta que poseen las quinolonas y que dan como resultado dos bandas de absorción: una entre 300-305 nm, común a todas las quinolonas, y otra de 245–290 nm, específica para cada quinolona.

Además las quinolonas, tienen la capacidad de presentar fluorescencia nativa, lo que permite utilizar métodos espectrofluorimétricos, más sensibles y selectivos que el anterior, pues presentan un espectro de emisión de 350–400 nm para las quinolonas ácidas y de 440–500 nm para las quinolonas anfóteras. La única y gran limitación reside en que, si aumenta el pH del medio disminuye la intensidad de la fluorescencia, haciendo imposible observar la molécula de quinolona.

Por otra parte, las quinolonas presentan en su estructura un grupo carbonilo adyacente a un grupo carboxilo; ello permite utilizar métodos electroanalíticos que se aplican fundamentalmente para el análisis de preparados farmacéuticos y fluidos biológicos. La desventaja de éstos es que son métodos que permiten menos automatización que los métodos cromatográficos (González Pérez y col., 2008). Los más utilizados han sido la polarografía clásica de barrido simple (SSP), la oscilopolarografía (SSOP), la polarografía pulsante diferencial (DPP), la voltamperometría de resolución adsorptiva (AdSV) y voltamperometría de onda cuadrada (SWV).

Otros dos métodos analizan compuestos químicos por medio de la separación de los mismos en función de su relación carga-masa: la espectrometría de masas, capaz de identificar los distintos elementos químicos que integran una molécula (si bien es un método muy selectivo, es muy costoso, por lo que su uso se limita al análisis de estas moléculas en los alimentos) y la electroforesis capilar donde se produce la movilidad electroforética por la aplicación de una diferencia de potencia en los extremos de un tubo hueco de diámetro pequeño, por el que se obtienen separaciones adecuadas (aún se precisan investigaciones para conocer su alcance) (Juan-García y col., 2005).

Lombardo Agüí, M., (2012) menciona y desarrolla otras técnicas para detección de quinolonas (espectrofotometría UV-Vis, fluorescencia, MS) y técnicas separativas de ultra-resolución, utilizadas principalmente para la detección de residuos en alimentos y en el ambiente.

Otro método que se utiliza para cuantificar las quinolonas presentes en las sustancias a observar es el método microbiológico, habitualmente empleado en estudios farmacocinéticos. Tiene la ventaja de que necesita poco volumen de muestra, fundamental para especies de pequeño tamaño (las extracciones se deben limitar hasta 8% del peso vivo); además, es un método rápido, simple y económico; el inconveniente de esta técnica es que sólo detecta actividad antimicrobiana, no puede identificar metabolitos diferentes que puedan estar actuando (como puede ser el caso de enrofloxacin y su metabolito activo, la ciprofloxacina): se detecta el halo de inhibición que se produce, pero no es posible detectar interferencias.

Dentro de los métodos microbiológicos, la técnica propuesta por Bennett fue revisada y estudiada por Lorenzutti, M., (2009), quien determinó que no hay diferencias significativas entre la cromatografía líquida (HPLC) y el método microbiológico.

VI.2.3.- Tratamiento farmacocinético

El modelo más adecuado para hacer un estudio farmacocinético del comportamiento de fármacos tras su administración intravenosa es el modelo compartimental (mono-, bi- o tricompartmental). Es el modelo más utilizado en la mayoría de los estudios en animales jóvenes donde se quiere observar la influencia de la edad: (Díaz, D., 2012 en terneros; Waxman y col., 2004 en cabritos; Lüders, C., 2014 en bucerros) y en adultos Thomas y col., (1994) en vacas; Schneider y col., (1996) y Cester y col., (1996) en perros; Shem Tov y col., (1997) en ovejas; García-Montijano y col., (2001) en buitres; Tafur Garzón, M.A., (2000) en pollos; Goudah y col., (2007) en búfalos; Waxman y col., 2001, 2003 y 2004 y Fernández-Palacios, R., (2014) en cabras; Laraje y col., (2006) en camellos. Este modelo permite realizar un mejor ajuste y brinda mayor claridad sobre el comportamiento de la molécula; por estos motivos lo realizamos en primera instancia. Sin embargo, hay que tener en cuenta que si el diseño del muestreo no es lo suficientemente amplio y no contempla la toma de muestras en tiempos clave, el modelo compartimental no es capaz de definir correctamente si el mejor ajuste es un mono-, bi- o tricompartmental. En nuestro caso intentamos conjugar un número suficiente de tomas (16 en 24 h y de ellas, 9 en las primeras 2 h) con el manejo de animales de muy

corta edad. Considerando los criterios habituales de ajuste, como el de Akaike, Schawr, suma de residuales y coeficiente de Pearson, el modelo que mejor define los datos obtenidos es el modelo bicompartimental abierto de primer orden, con ponderación ($1/y^2$). Otros autores, en otras especies, se ajustan a diferentes modelos: Schneider y col. (2014), utilizan un modelo no-compartimental en cerdos de 3, 4 y 6 meses de edad; Aliabadi y Lees (2002), en terneras, utilizan el modelo tricompartmental, al igual que Schneider y col. (2000) en conejos.

Al realizar el análisis bicompartimental, los resultados muestran que K_{12} es mayor a K_{10} en todas las edades, por lo que se demuestra que es mayor el número de moléculas que pasan del compartimento central al periférico, que las que son eliminadas al exterior.

En el caso de las constantes de distribución podemos mencionar que entre K_{12} y K_{21} no se observan grandes diferencias, excepto a los 50 días de edad, en donde K_{12} es más del doble que la K_{21} lo que indicaría, a esa edad, que hay una mayor velocidad de paso desde el compartimento central hacia el periférico ($K_{12}= 3,03 \pm 5,80$ y $K_{21}= 1,33 \pm 1,26$). En el estudio llevado a cabo por Waxman y col., (2004) en cabritos, se produjo la situación contraria, en las diferentes edades $K_{12} < K_{21}$ (7 días: $K_{12}= 2,05 \pm 1,74$ y $K_{21}= 4,31 \pm 2,79$; a los 21d: $K_{12} = 0,84 \pm 0,81$ y $K_{21} = 4,43 \pm 4,25$; 42 días: $K_{12}= 1,18 \pm 0,67$ y $K_{21}= 3,16 \pm 1,50$).

Si analizamos la relación entre K_{21}/K_{10} , observamos que cuando ésta es > 1 , indicaría que el retorno del fármaco desde el compartimento periférico al central no condiciona la eliminación del mismo. En los tekes, en todas las edades estudiadas, se observa siempre un resultado mayor a 1 (3 días: $0,28/0,07 = 4$; 10 días: $1,11/0,09 = 12,33$; 24 días: $0,76/0,13 = 5,84$; 50 días: $1,33/0,25 = 5,32$; y 80 días de edad: $1,01/0,25 = 4,04$) por lo que, como ya hemos comentado previamente, la eliminación no estaría regulada por el retorno de las moléculas desde el compartimento periférico al central. Esto podría explicar en parte las bajas concentraciones iniciales plasmáticas y el posterior enlentecimiento en el proceso de eliminación, más marcado en los animales entre 50 y 80 días.

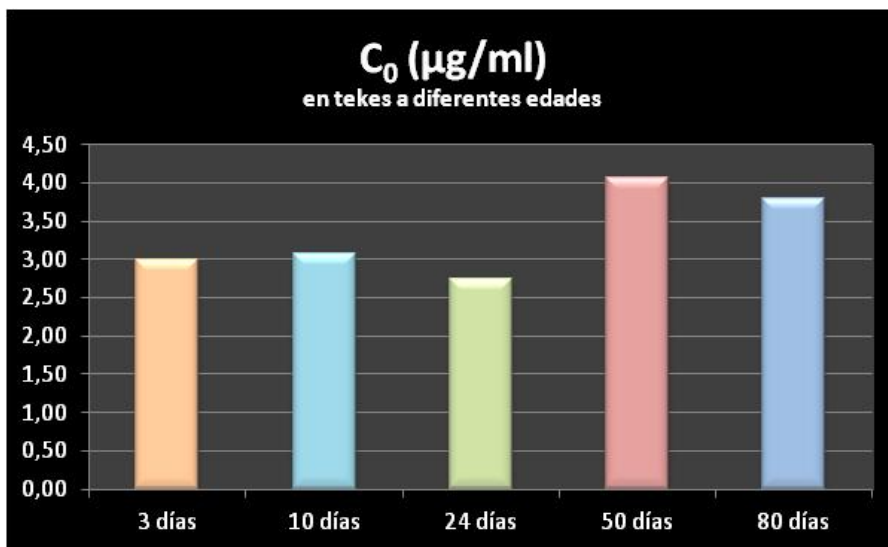
Del mismo modo y para poder establecer comparaciones entre las dos vías de estudio, IV y SC, y con otros estudios, se aplicó un modelo no compartimental, gracias al cual se obtienen datos con menos artificio matemático en el que los parámetros resultantes son más robustos.

VI.2.4.- Administración intravenosa

VI.2.4.1.- Absorción: influencia del crecimiento en el comportamiento farmacocinético de la marbofloxacin en tekes.

Las concentraciones máximas plasmáticas (C_0) obtenidas en nuestro estudio indican que no existen diferencias significativas tras la administración IV de una dosis de

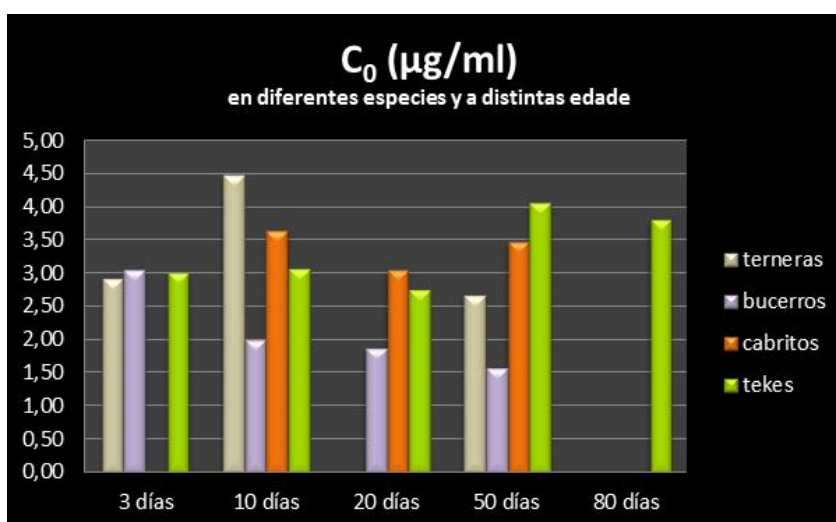
5 mg/kg de marbofloxacina, en las distintas edades (3, 10, 24, 50 y 80 días). Estas concentraciones se encuentran entre $2,75 \pm 1.02$ y 4.06 ± 1.18 $\mu\text{g/ml}$.



Gráfica VI.1.- Concentración plasmática (C_0) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacina en tekes de distintas edades

Se puede, no obstante, observar un leve incremento de las mismas entre animales de 50 y 80 días (a medida que aumenta la edad, y por tanto, el grado de desarrollo) frente a los de 3, 10 y 24 días.

En estudios realizados en otras especies, este mismo comportamiento se observa en cabritos (Waxman y col., 2004) mientras que en terneros (Díaz D., 2012) y bucerros (Lüders, C., 2014) las concentraciones no siguen este mismo patrón. En terneros hay un incremento a los 10 días y en los bucerros el descenso se observa desde los 3 días hasta los 50 días. Existen estudios en cerdos (Schneider y col., 2014) pero al no emplear este intervalo de edades, no se puede llevar a cabo la comparación.



Gráfica VI.2.- Concentración plasmática (C_0) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacina en tekes y 2 mg/kg en otras especies de distintas edades

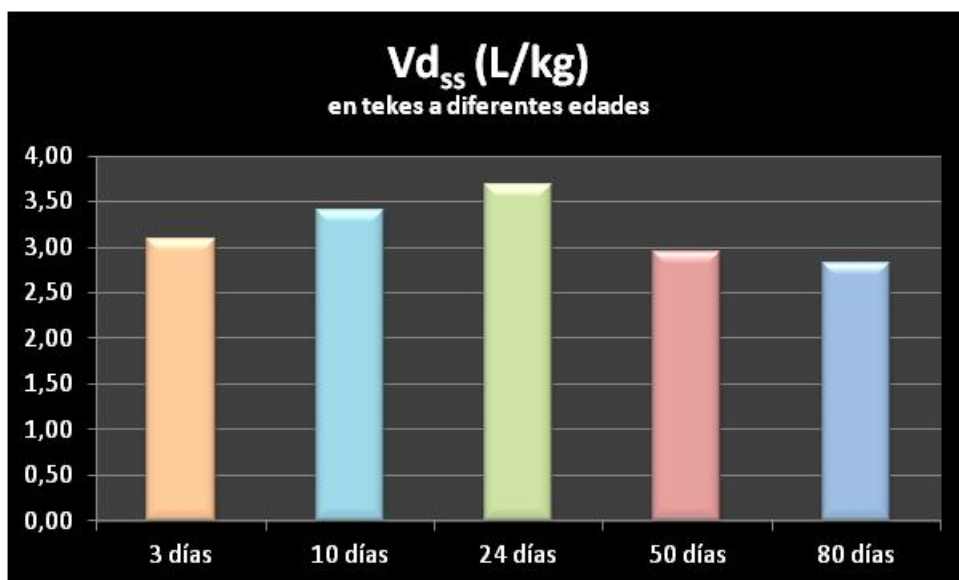
En cuanto a los valores alcanzados de C_0 , los tekes arrojan concentraciones de entre 2,75 y 4,06 $\mu\text{g/ml}$, similares a las descritas en terneros 2,66-4,47 $\mu\text{g/ml}$ (Díaz D., 2012) y cabritos 3,05-3,63 $\mu\text{g/ml}$ (Waxman y col., 2004), si bien en estos casos la dosis utilizada fue de 2 mg/kg (frente a los 5 mg/kg de nuestro estudio); en el caso de los bucerros también con 2 mg/kg (1,58-3,05 $\mu\text{g/ml}$ Lüders, C., 2014) únicamente la edad de 2-3 días se asemeja al resto de las especies, siendo los valores prácticamente la mitad en el resto de edades frente a las demás especies.

En comparación con animales adultos las concentraciones son más bajas, ya que en llamas adultas (Rubio-Langre y col., 2012), a igual dosis, la C_0 fue de 16,13 $\mu\text{g/ml}$. Con 2 mg/kg Díaz, D., (2012) obtuvo un valor de 4,19 $\mu\text{g/ml}$; Waxman y col., (2001) 3,23 $\mu\text{g/ml}$.

VI.2.4.2.- Distribución

Existen diferentes tipos de volumen de distribución, El V_d tiene como principal objetivo establecer una dosis de carga o inicial, y no guarda relación con la capacidad de distribuirse en mayor o menor grado por la economía animal. Esta característica “fisiológica” es más propia del $V_{d_{ss}}$.

Los valores de $V_{d_{ss}}$ van en aumento desde los 3 a los 24 días de edad ($3,08 \pm 0,64$ L/kg a los 3 días; $3,41 \pm 0,69$ L/kg a los 10 días; $3,68 \pm 1,03$ L/kg a los 24 días), siendo a esta edad el valor más alto, para luego, disminuir a los 50 días ($2,95 \pm 0,52$ L/kg) y, finalmente a los 80 días de edad, presentar el valor más bajo ($2,83 \pm 0,35$ L/kg), sin embargo no encontramos diferencias significativas entre estos valores.



Gráfica VI.3.- Volumen de distribución ($V_{d_{ss}}$) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacin a teques de distintas edades

Son muchos los factores que influyen en el $V_{d_{ss}}$, (composición corporal, cantidad de grasa y agua, desarrollo del espacio extravascular, unión a proteínas plasmáticas, etc.) y cada uno puede contrarrestar la influencia de los otros en mayor o menor medida, por eso no hay diferencias. Por otro lado, aunque se puede apreciar una cierta tendencia,

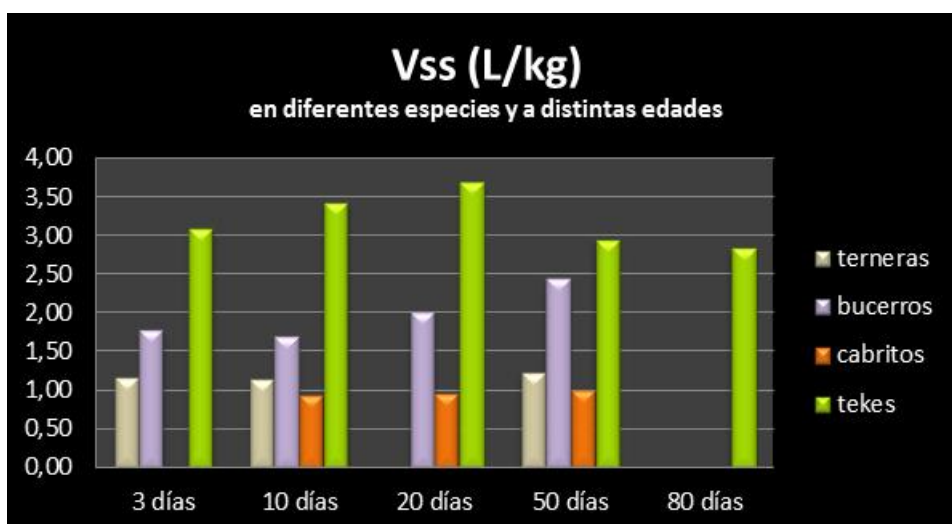
las desviaciones estándar elevadas en algunos casos impiden determinar si esas diferencias son significativas o no.

Debemos tener en cuenta que la marbofloxacin es una molécula no polar, soluble en agua y lipofílica, por lo que es de esperar que el $V_{d_{ss}}$ aumente a medida que el animal crece, fundamentalmente por el desarrollo de los espacios extravasculares, como los proventrículos, donde esta molécula puede difundir con mayor facilidad (Waxman y col., 2004).

La pequeña variación que observamos entre ambos grupos (3, 10, 24 días y 50, 80 días de edad podría deberse también a la maduración de los sistemas enzimáticos (Ruckebush y col., 1982) y a la unión a proteínas plasmáticas. Los animales jóvenes presentan en general una hipoalbuminemia relativa; esta menor concentración de albúmina plasmática provoca una menor unión de fármacos de pK ácidos (Baggot, J.D., 2001; Sapal y col., 2009; Tohamy, M.A., 2011; Van Miert y col., 1985). Esta baja unión a proteínas plasmáticas y otros factores de la molécula del fármaco permiten que tenga una amplia distribución tisular e intracelularmente (Pathania y Sharma, 2010).

Estas dos situaciones, podrían explicar la pequeña tendencia a disminuir que presenta el $V_{d_{ss}}$, y esta situación, coincide, de alguna manera, con las observaciones en llamas adultas, en donde se registra un valor de $0,75 \pm 0,21$ L/kg (Rubio-Langre y col., 2012).

Por otro lado, la proporción de agua corporal es mayor en neonatos (70-75%) que en adultos (60%), ya que la proporción de grasa corporal se incrementa con la edad; por lo tanto es de esperar que fármacos liposolubles y con una baja unión a proteínas plasmáticas (Bregante y col., 2000) como la marbofloxacin, presenten un mayor volumen de distribución en jóvenes que en adultos, como fue descrito en cabras por Waxman y col., (2004) y bucerros por Lüders, C., (2014).



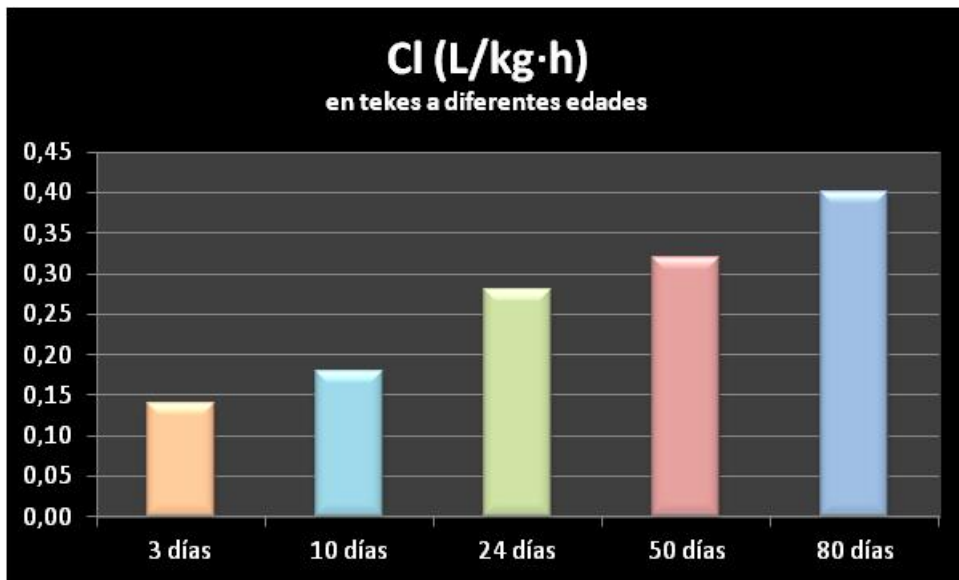
Gráfica VI.4.- Volumen de distribución (V_{ss}) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes y 2 mg/kg en otras especies de distintas edades

Comparando con otros estudios el Vd_{ss} es mayor al que observamos en otras especies donde también se realizaron estudios por edades, practicante el doble que en terneras 1,13-1,22 L/kg (Díaz D., 2012), bucerros 1,77-2,45 L/kg (Lüders, C., 2014); cabritos 0,92-1,00 L/kg (Waxman y col., 2004); esto indica que la marbofloxacina en los tekes se distribuye más ampliamente que en otras especies, pero tiene la desventaja de provocar unas bajas concentraciones plasmáticas iniciales. Tampoco en otras especies no rumiantes con estudios en diferentes edades como los cerdos, se observaron cambios significativos en el volumen estacionario, siendo esos valores de $1,58 \pm 0,238$ L/kg a las 12 semanas de edad; $1,75 \pm 0,124$ L/kg a las 16 semanas y $1,58 \pm 0,266$ L/kg a las 27 semanas de edad, con una dosis de 8 mg/kg (Schneider y col., 2014).

Podemos mencionar que para otras fluoroquinolonas, en especies de la familia *Camelidae*, también se registran datos que indican que habría una amplia distribución, aunque inferior que los tekes; tal es el caso de la difloxacina con un $Vd_{ss} = 1,02 \pm 0,21$ L/kg (Abo-El-Shoud y Goudah, 2009) y $1,14 \pm 0,3$ L/kg (Al-Taher, A., 2014) y moxifloxacina de $1,78 \pm 0,79$ L/kg en camellos (Abd El-Aty y col., 2007), y la enrofloxacin en llamas con un Vd_{ss} de $0,53 \pm 0,05$ L/kg, (Rubio, S., 2011) todos ellos utilizando dosis de 5 mg/kg.

VI.2.4.3.- Eliminación

En el **Aclaramiento Plasmático (Cl)**, se observa un aumento constante desde los 3 días a los 80 días de edad, registrándose valores de $0,14$ L/kg.h $\pm 0,03$ a los 3 días de edad; $0,18$ L/kg.h $\pm 0,03$ a los 10 días de edad; $0,28$ L/kg.h $\pm 0,09$ a los 24 días de edad; $0,32$ L/kg.h $\pm 0,12$ a los 50 días de edad; y $0,40$ L/kg.h $\pm 0,22$ a los 80 días. Si comparamos a los animales de distintas edades entre sí, podemos observar que no existen diferencias significativas entre los 3 y 10 días de edad, entre los 10 y 24 días, y, finalmente, entre los 24, 50 y 80 días.



Gráfica VI.5.- Aclaramiento plasmático (Cl) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacina en tekes de distintas edades

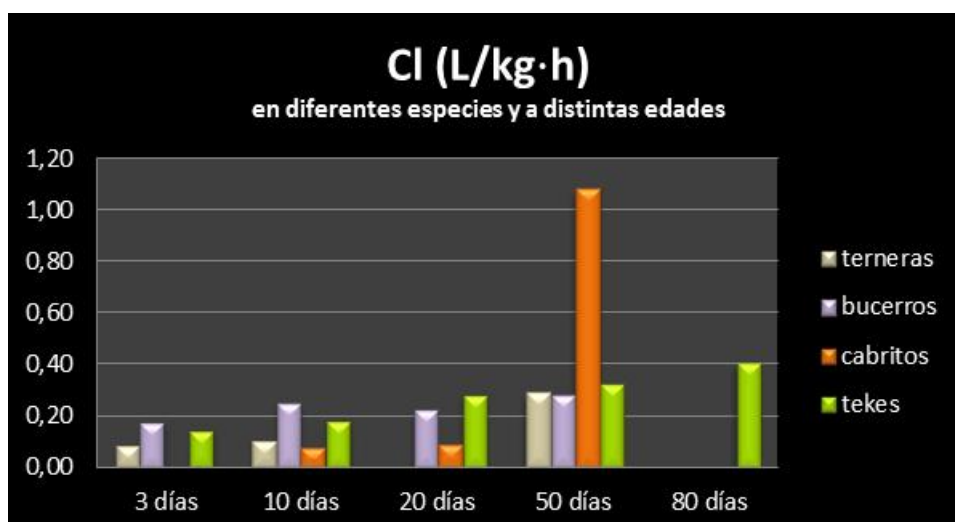
Este aumento puede estar relacionado con varios factores:

En primer lugar, el metabolismo de los fármacos se encuentra poco desarrollado en animales pequeños y la tasa metabólica aumenta con la edad. Si bien esto es real, no es un factor significativo para esta molécula debido a que menos de un 5% de la misma se metaboliza.

Sin embargo, a medida que el animal crece, maduran los órganos implicados en los procesos de eliminación (Baggot, J.D., 2001), entre éstos, la funcionalidad renal, que se completa en las especies rumiantes, entre la primera y segunda semana de vida (Ruckebush y col., 1982).

Por otra parte, el cambio de alimentación influye directamente en el pH urinario. En los primeros días de edad el teke se alimenta exclusivamente de leche materna y esto determina un pH más bajo en orina (las quinolonas son descritas como de reabsorción tubular pH-dependiente (Sörgel y Kinzig, 1993), y dado que, la marbofloxacina se elimina por vía renal y que las fluoroquinolonas pueden ser reabsorbidas a nivel tubular (Sörgel y Kinzig, 1993), el aclaramiento se ve influenciado por este factor. A medida que el animal crece, aumenta su ingesta de pasto; según Fowler, M.E., (1989) los tekes comienzan a ingerir pasto desde los 10-14 días de edad, aunque continúen dependiendo de la leche hasta los 6 meses aproximadamente. Este cambio alimenticio modifica su pH urinario a valores más alcalinos, de 7 a 8,5 en llamas adultas (Fowler, M.E., 1989), y esta alcalinidad en la orina ocasiona una reducción en la reabsorción tubular pasiva, favoreciendo así la eliminación de la molécula.

Cabe destacar que en llamas adultas se registró un valor de CI de $0,09 \pm 0,03$ L/kg.h (Rubio-Langre y col., 2012), que es un aclaramiento muy lento. Si además consideramos los cambios fisiológicos anteriormente descritos, esto no sería lógico, ya que debería ser igual o ligeramente superior al de los animales de 80 días. No obstante, esta situación, no es tan crítica o llamativa, si evaluamos en conjunto el gasto cardíaco y la capacidad de extracción de los órganos que más intervienen en la eliminación, como el hígado y los riñones ($CI = Q \cdot E$). Si dividimos el aclaramiento por el flujo cardíaco (Q) que depende del peso corporal corregido en escala alométrica, obtenemos la capacidad de extracción, que en el caso de las llamas adultas registra un valor $E = 0,021$, es decir un 2,1 %, que es considerado bajo (Toutain y Bousquet Melou, 2004). En el caso de los tekes de 3 días con un peso corporal de 10 kg, la capacidad de extracción sería también de 2 %, a los 10 días sería de 2,7 %, e iría subiendo paulatinamente hasta los animales de 80 días y 30 kg que llegaría hasta un $E = 7$ % que sigue considerándose un valor bajo.



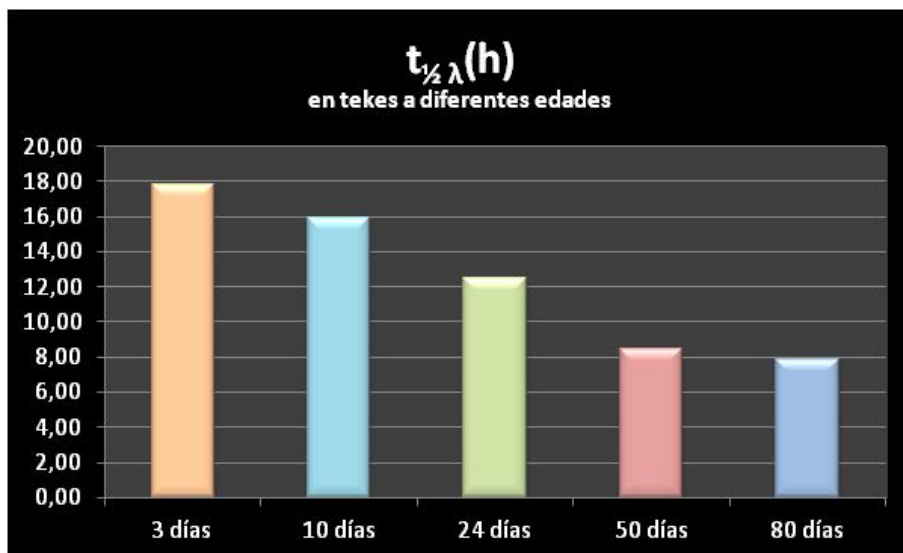
Gráfica VI.6.- Aclaramiento plasmático (Cl) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacina en tekes y 2 mg/kg en otras especies de distintas edades

En otros rumiantes en crecimiento se puede observar también un aumento del aclaramiento plasmático, que prácticamente se duplica a los 50 días de edad. En cabritos de diferentes edades, Waxman y col., (2004), obtuvieron valores entre 0,08 - 0,18 L/kg.h y de 0,23 L/kg.h en cabras adultas; Díaz, D., (2012), en terneros encontró valores entre 0,084 - 0,288 L/kg.h y de 0,287 L/kg.h en vacas adultas y en bucerros, Lüders, C., (2014) entre 0,17 - 0,28 L/kg.h no disponiendo de datos en adultos, Por su parte, Thomas y col., (1994), trabajaron también con terneros y registraron valores de Cl = 0,15 L/kg.h en animales de 3 semanas de edad y un valor de 0,31 L/kg.h en bovinos adultos.

A diferencia de lo que sucede en rumiantes, en cerdos, Schneider y col., (2014), tras administrar 8 mg/kg observaron a las 12 semanas de edad $0,092 \pm 0,004$ L/kg.h; a las 16 semanas $0,079 \pm 0,009$ L/kg.h y a las 27 semanas de edad, un valor de $0,065 \pm 0,011$ L/kg.h; aquí se puede observar la declinación de éste parámetro a medida que el animal crece. El autor explica esta presentación en relación al gasto cardíaco y a la capacidad de extracción en esta especie. Consideramos que también puede ser debido a que el pH urinario en los porcinos, no cambia como en los rumiantes.

Algunos estudios con otras fluoroquinolonas demuestran la misma situación. El aclaramiento en terneros, lactantes y destetados, muestra un aumento significativo para norfloxacina (Gips y Soback, 1996). También, en terneros, el aclaramiento de la flumequina se incrementó con la edad (Mevius y col., 1990). Por su parte, en corderos, la norfloxacina, mostró el mismo comportamiento (González Gómez, F., 2002).

Los valores de **Semivida de Eliminación** ($t_{1/2\lambda}$) obtenidos fueron: $17,84 \pm 3,69$ h; $15,90 \pm 3,03$ h; $12,46 \pm 2,62$ h; $8,46 \pm 3,86$ h; $7,86 \pm 3,86$ h; para los 3, 10, 24, 50 y 80 días de edad, respectivamente.



Gráfica VI.7.- Semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes de distintas edades

Se observan dos grupos claramente diferenciados: de 3 a 24 días y de 24 a 80 días. Dentro de cada grupo no existen diferencias significativas pero sí entre los dos grupos de edades mencionados.

De la misma forma que el aclaramiento va aumentando con la edad y por tanto con la maduración de los sistemas de eliminación, la semivida de eliminación va disminuyendo desde los 17,84 h a los 3 días hasta menos de la mitad, 7,86 h a los 80 días. La semivida plasmática terminal es el tiempo necesario para dividir la concentración plasmática a la mitad, después de alcanzar el pseudo-equilibrio, y no el tiempo requerido para eliminar la mitad de la dosis administrada. Cuando el proceso de absorción no es un factor limitante, como es el caso de la vía IV, la semivida es un parámetro híbrido controlado por el aclaramiento plasmático y el volumen distribución.



Gráfica VI.8.- Semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes y 2 mg/kg en otras especies de distintas edades

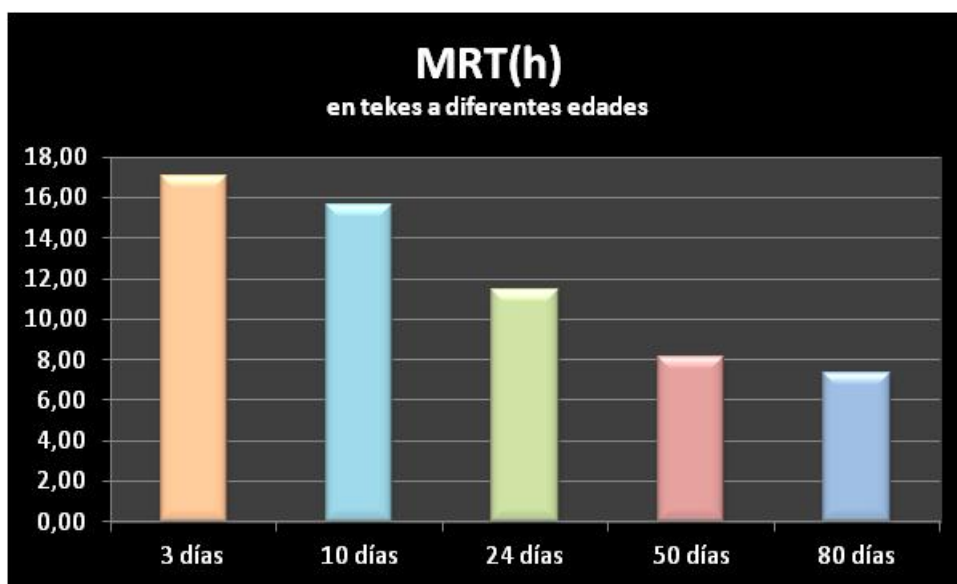
La misma situación se manifiesta en terneros con valores que van desde 12,22 a 3,21 h y en vacas adultas 2,28 h (Díaz D., 2012); y en cabritos, desde 9,66 a 6,44 h (Waxman y col., 2004). En bucerros nos encontramos sin embargo con alguna diferencia ya que el valor más bajo de semivida aparece a los 10 días de edad, 5,27 h (Lüders, C., 2014).

Si comparamos la semivida de eliminación de marbofloxacina en llamas adultas, observamos que, a diferencia de otros parámetros, ésta presenta un valor $9,16 \pm 1,08$ h (Rubio-Langre y col., 2012), no muy diferente al observado en tekes de 50 y 80 días de edad. Esto es debido a que este valor hace referencia a la pendiente de la fase de eliminación, y no tanto de la cantidad de fármaco en el organismo.

Este mismo parámetro en otras moléculas de fluoroquinolonas, en especies de la familia *Camelidae* y con la misma dosis, registra valores de $6,65 \pm 0,45$ h (Al-Taher, A., 2014) y $2,97 \pm 0,31$ h (Abo-El-Shoud y Goudah, 2009) para difloxacina y para moxifloxacina se observó $1,87 \pm 0,16$ h (Abd El-Aty y col., 2007), ambas moléculas en camellos y tras análisis en modelos bicompartimentales. En llamas, tras el análisis de un modelo monocompartmental, se registró un valor de $4,08 \pm 1,04$ h para enrofloxacina (Rubio, S., 2011).

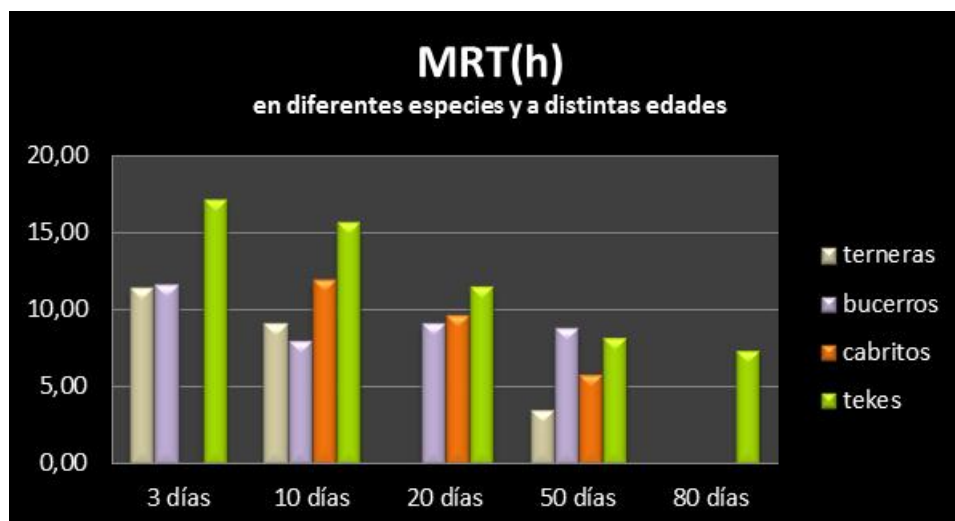
El Tiempo Medio de Residencia (MRT) es el otro parámetro que define el tiempo que tardan las moléculas del fármaco en ser eliminadas, o lo que es lo mismo, describe el tiempo en que han permanecido en el organismo. A diferencia de la semivida, no está condicionado por las pendientes de eliminación, por lo que resulta un valor más ajustado a la realidad.

El MRT_{last} , en el análisis, presenta los siguientes valores para 3, 10, 24, 50 y 80 días de edad, respectivamente: $17,06 \pm 2,92$ h; $15,60 \pm 2,16$ h; $11,42 \pm 2,15$ h; $8,14 \pm 3,68$ h, $7,33 \pm 2,59$ h.



Gráfica VI.9.- Tiempo Medio de Residencia (MRT) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacina en tekes de distintas edades

Este descenso progresivo es significativamente diferente entre 3 y 10 días con los animales de 20, 50 y 80 días; es igual que lo que sucede con la semivida: hay dos grupos de edad y esto a su vez coincide con las edades en las que el aclaramiento presentaba una inflexión, es decir, los 24 días suponen un cambio en los procesos de maduración en estos animales.



Gráfica VI.10.- Tiempo Medio de Residencia (MRT) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes y 2 mg/kg en otras especies de distintas edades

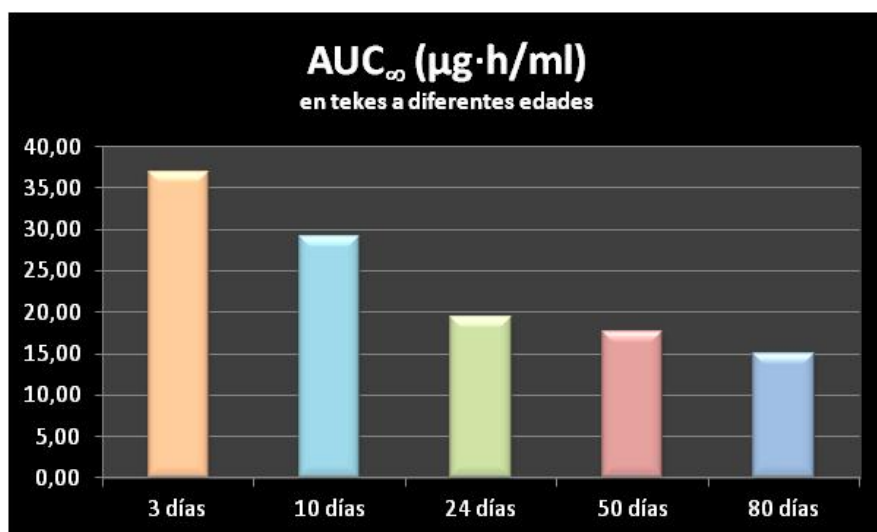
En terneras (11,38 – 2,71 h, Díaz, D., 2012) y cabritos (11,86 – 5,76 h, Waxman y col., 2004) se presentan valores inferiores aunque con la misma pauta de disminución, mientras que en bucerros (11,54 – 8,81 h, Lüders, C., 2014) al igual que ocurre con la semivida, a los 10 días (7,97 h) es donde encontramos el menor valor.

En llamas adultas el MRT_{last} es de $7,30 \pm 1,07$ h (Rubio-Langre y col., 2012), valor muy similar al observado en tekes de 80 días de edad. Como el $MRT = AUMC/AUC = Vd_{ss}/Cl$, dado que el Vd_{ss} en animales jóvenes oscila en valores próximos a 3 y en animales adultos 0.75 y el Cl en jóvenes va desde 0.14 a 0.4 y en adultos 0.09, estos valores se compensan obteniendo un MRT semejante.

Para otras fluoroquinolonas, en especies de la familia *Camelidae*, se han observado los siguientes valores; difloxacin en camellos $5,0 \pm 0,7$ h (Al-Taher, A., 2014) y $4,11 \pm 0,21$ (Abo-El Shoud y Goudah, 2009), y moxifloxacin también en camellos $5,77 \pm 1,83$ h (Abd El-Aty y col., 2007). En llamas, tras el análisis de un modelo monocompartimental, se registró un valor de $4,64 \pm 0,70$ h para enrofloxacin (Rubio, S., 2011).

Por último estudiaremos el **Área Bajo la Curva** (AUC), parámetro que representa las concentraciones plasmáticas en función del tiempo, y que está influenciado por procesos de absorción, distribución y eliminación. Una vez que el fármaco alcanza el torrente sanguíneo, el principal responsable de sus modificaciones es el aclaramiento plasmático, por ello el aumento de los valores en este último se ve reflejado en las AUC_{∞} .

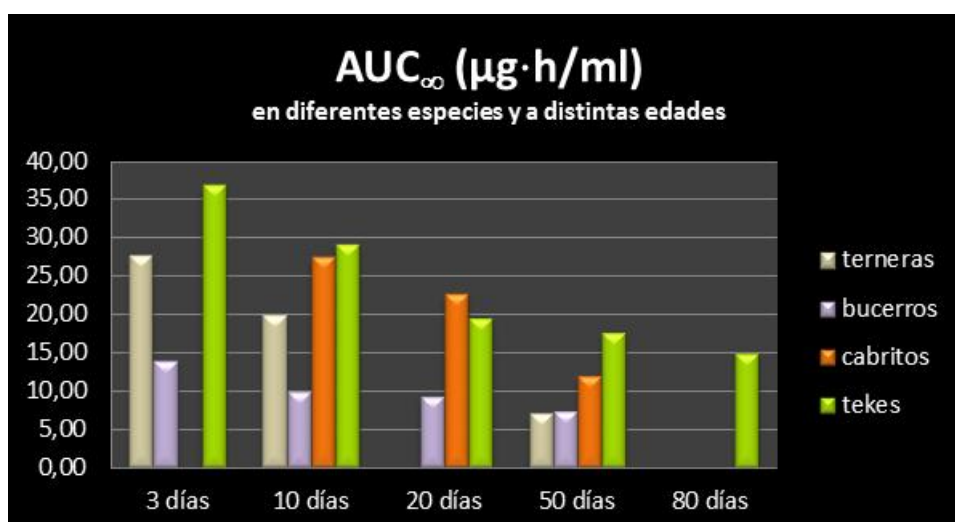
Los valores obtenidos en este parámetro muestran un claro descenso a medida que el animal crece; así a los 3 días de edad se registra un valor de $36,88 \pm 8,73 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$; a los 10 días, $29,15 \pm 5,35 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$; a los 24 días: $19,48 \pm 7,30 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$; a los 50 días $17,58 \pm 5,95 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ y, finalmente, a los 80 días, $14,96 \pm 6,08 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$.



Gráfica VI.11.- Área Bajo la Curva (AUC_{∞}) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes de distintas edades

Estadísticamente no existen diferencias significativas entre los 3 y 10 días, 10, 24 y 50 días y 24, 50 y 80 días, pero sí entre los 3 grupos mencionados. Volvemos de nuevo a ver como la edad de 24 días marca diferencia con respecto al resto de las edades, pudiendo deberse, como hemos mencionado anteriormente a la alimentación, maduración de sistemas excretores, distribución extravascular con desarrollo de proventrículos, etc.

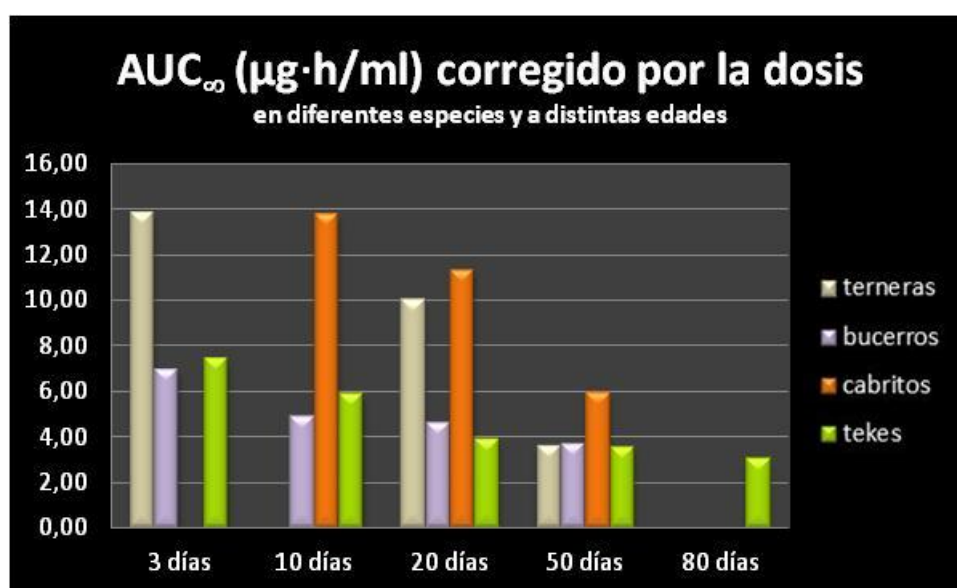
Estos valores son elevados si los comparamos con los obtenidos en otros animales en crecimiento, antes de corregir por la dosis administrada.



Gráfica VI.12.- Área Bajo la Curva (AUC_{∞}) tras la administración IV de 5 mg/kg de marbofloxacin en tekes y 2 mg/kg en otras especies de distintas edades

Tal es el caso de otras especies; con la mitad de la dosis, los cabritos presentaron un AUC_{∞} de 27,46 - 11,86 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ (Waxman y col., 200); los terneros (Díaz, D., 2012), 27,63 - 7,12 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$; lo mismo ocurre en bucerros aunque con valores inferiores en los primeros días 13.84 - 7.30 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ (Lüders, C. (2014). Si comparamos con los valores obtenidos en cerdos (Schneider y col., 2014) con 8 mg/kg, el AUC_{∞} aumenta significativamente de 88,6 a 127 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, desde las 12 a 27 semanas de edad, y además, éstos valores van aumentando a medida que el cerdo crece, observación acorde a los registrado en sus aclaramientos plasmáticos.

Puesto que el AUC está relacionado con la dosis administrada, para hacer una correcta comparación deberemos corregir los valores obtenidos por la dosis.



Gráfica VI.13.- Área Bajo la Curva (AUC_{∞}) corregido por la dosis tras la administración IV de marbofloxacina en tekes y otras especies de distintas edades

Podemos observar como ahora el AUC_{∞} obtenido en los tekes se asemeja mucho al encontrado en los bucerros, mientras que cabritos y terneras se asemejan entre si e incluso también a los cerdos.

En llamas adultas se obtuvo un valor de AUC_{∞} de $59,24 \pm 24,42 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, ($59/5 = 11.8$) que guarda relación con el bajo valor de CI registrado en esos animales.

Otras fluoroquinolonas, han mostrado valores más pequeños con dosis de 5 mg/kg, como el caso de difloxacin con un AUC_{∞} de $31,9 \pm 3,1 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, (Al-Taher, A., 2014), y de $23,17 \pm 4,51$ (Abo-El Shoud y Goudah, 2009), y la moxifloxacin en camellos de $14,72 \pm 0,69 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ (Abd el-Aty y col., 2007); la enrofloxacin en llamas adultas registró un valor de AUC_{∞} de $43,72 \pm 6,90 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ (Rubio, S., 2011).

VI.2.5.- Administración subcutánea

Tras la administración subcutánea no se observaron signos de irritación local, ni manifestaciones de dolor, a pesar de que algunas fluoroquinolonas, como figura en las fichas técnicas, pueden producir toxicidad tisular en el punto de inyección, o la administración del producto por vía subcutánea puede producir una reacción inflamatoria de intensidad variable en los puntos de inyección que puede persistir a los 15 días tras la inyección. Esta ausencia de irritación con marbofloxacin, fue ya descrita por Rubio y col., 2012, que midieron las concentraciones de CPK en llamas tras la administración IM y SC, encontrándose valores muy próximo a los considerados como referencia.

Los datos de concentraciones plasmáticas obtenidos se sometieron a un análisis no compartimental, con el fin de comparar, en igualdad de condiciones, con otros estudios realizados en especies de rumiantes y camélidos de diferentes edades con marbofloxacin o con otras fluoroquinolonas que hubieran sido administrada por vía SC.

La C_{max} obtenida (dosis única 5 mg/kg, vía SC, en teques de 35 días de edad) alcanzó valores de $1,73 \pm 0,37 \mu\text{g/ml}$. Este valor es similar al obtenido en bucerros de 7 a 10 días de edad, $1,17 \pm 0,17 \mu\text{g/ml}$ (Lüders, C., 2014) y al de cabras, ($1,77 \pm 0,24 \mu\text{g/ml}$) (Waxman y col., 2006), pero en ambos casos a una dosis de 2 mg/kg. En cambio es inferior al registrado en llamas adultas ($6,94 \pm 2,19 \mu\text{g/ml}$) (Rubio-Langre y col., 2012).

Estudios con difloxacin en ovejas ($1,39 \mu\text{g/ml}$, Marín y col., 2007) y en camellos ($2,1 \mu\text{g/ml}$. Al-Taher, A., 2014), a dosis de 5 mg/kg en animales adultos, presentaron valores similares a los obtenidos en los teques; la enrofloxacin en ovejas ($1,23 \mu\text{g/ml}$) a dosis de 2,5 mg/kg (Gavrielli y col., 1995), y en llamas y alpacas (a dosis de 5 mg/kg) presentó concentraciones de C_{max} más elevados, de $3,26 \pm 0,36 \mu\text{g/ml}$ y $4,16$ respectivamente (Rubio, S., 2011 y Gandolf y col., 2005). Las concentraciones más bajas se han obtenido con danofloxacin en bovinos ($0,23 \mu\text{g/ml}$, a dosis de 1,25 mg/kg (McKellar y col., 1999) y moxifloxacin en ovejas a 5 mg/kg ($0,90 \mu\text{g/ml}$ (Cárceles y col., 2009).

La absorción presentó un T_{max} a las $0,92 \pm 0,34$ h, más parecido al descrito en bucerros ($0,62 \pm 0,14$ h, Lüders, C., 2014), y cabras ($1,25 \pm 0,5$ (Dova y col., 2007) que al registrado en llamas ($1,83 \pm 0,61$ h (Rubio-Langre y col., 2012).

En otras fluoroquinolonas los valores de T_{max} son variados: se encuentran también alrededor de 1 hora, la enrofloxacin en camellos (1 h, Gavrielli y col., 1995) y las llamas ($1,83$ h, Rubio, S., 2011), mientras que en las alpacas la T_{max} alcanza las 6,0 h (Gandolf y col., 2005), la danofloxacin en vacas 1,25 h (McKellar y col., 1999), la difloxacin en dromedarios 4,0 h (Al-Taher, A., 2014) y en ovejas 5,33 h, (Marín y col., 2007) y la moxifloxacin en ovejas 3,25 h (Cárceles y col., 2009).

La biodisponibilidad calculada para las edades más próximas (24 y 50 días) presenta valores elevados entre 80 y 90 %, similares a los descritos en otras especies (128 % en bucerros, (Lüders, C., 2014) o para diferentes fluoroquinolonas: 82,35 % para difloxacin (Marín y col., 2007), 102,20 % para moxifloxacin (Cárceles y col., 2009) ambos en ovejas, que coincide con los porcentajes de la mayoría de las de diferentes

edades muestra un aumento progresivo y constante a medida que el animal crece, obteniéndose los valores más elevados en los individuos adultos, situación que se relaciona con el valor obtenido por Rubio, S., (2011) en llamas, siendo en ese caso un valor de $F = 118,48 \%$.

El AUC muestra un valor de $16,36 \pm 3,12 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, muy parecido al que presentan animales de edades próximas 24 y 50 días tras la administración IV (AUC_∞ = $19,48 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ y $17,58 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, respectivamente). Para comparar en igualdad de condiciones con otras especies, utilizamos los valores de AUC corregidos por la dosis empleada. Así, frente al valor corregido (dosis 5 mg/kg) de $3 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ en tekes, esta misma molécula presento valores corregidos (dosis de 2 mg/kg) de aproximadamente $5,5 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ en bucerros de 7 a 10 días de edad (Lüders, C., 2014) y en cabras, (dosis de 2 mg/kg) de $4 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$. (Dova y col., 2007).

En camellos, el AUC de difloxaciná registró un valor más elevado, siendo éste de $30,2 \pm 2,27 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ (Al-Taher, A., 2014); situación similar se observa en llamas, tras la administración SC de enrofloxaciná, que muestra un valor de $39,93 \pm 4,94 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ (Rubio, S., 2011).

Para los valores de eliminación, se debe tener presente que los cálculos de aclaramiento plasmático y de Vd para las vías extravasculares, lleva implícita la corrección por la biodisponibilidad (F), por lo cual su importancia es relativa. Tras la administración SC de marbofloxaciná a dosis de 5 mg/kg a los 35 días de edad, el Cl fue de $0,32 \pm 0,07 \text{ L}/\text{kg}\cdot\text{h}$, exactamente igual que tras la administración IV a los 50 días de edad, en este caso y como hemos comentado previamente al tener en esas edades un valor de biodisponibilidad próximo a 1, la corrección prácticamente no sería necesaria.

Respecto a otras fluoroquinolonas, contamos con los datos de enrofloxaciná para cabras de $0,45 \text{ L}/\text{kg}\cdot\text{h}$ (Ramesh y col., 2002) y llamas de $0,13 \text{ L}/\text{kg}\cdot\text{h}$ (Rubio, S., 2011).

Por su parte la semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda} = 6,41 \pm 1,58 \text{ h}$) presenta valores inferiores a los descritos para la vía endovenosa en animales de 24 y 50 días ($12,46 \pm 2,62 \text{ h}$ y $8,46 \pm 3,86 \text{ h}$) y semejante al observado en llamas $6,26 \pm 0,87 \text{ h}$ (Rubio-Langre y col., 2012), bucerros de 7 a 10 días de edad, $6,20 \pm 0,89 \text{ h}$ (Lüders, C., 2014) y cabras, $5,74 \pm 1,21 \text{ h}$ (Dova y col., 2007).

Respecto a otras fluoroquinolonas, en otras especies, a dosis de 5 mg/kg en todos los casos, observamos valores semejantes en los trabajos de Al-Taher, A., (2014), quien obtuvo para difloxaciná en camellos un valor de 7,52 h; de Cárceles y col. (2009) con moxifloxaciná en ovejas que obtuvieron un valor de 7,42 h, Rubio, S. (2011) con enrofloxaciná, en llamas, de 4,09 h y Marín y col. (2007), con difloxaciná en ovejas registraron un $t_{1/2\lambda} = 12,02 \text{ h}$.

Para el tiempo medio de residencia obtuvimos un valor de $9,14 \pm 1,18 \text{ h}$, muy parecido al obtenido por Rubio-Langre y col., (2012) en llamas de $9,02 \pm 1,38 \text{ h}$ y algo mayor al observado en bucerros de $6,20 \pm 0,89 \text{ h}$ (Lüders, C., 2014) y en cabras por Dova y col., (2007): $5,74 \pm 1,21 \text{ h}$.

Para otras fluoroquinolonas, los valores de MRT oscilan entre 7,56 h de enrofloxacin en llamas (Rubio, S., 2011); 10,4 h para difloxacin en camellos (Al-Taher, A., 2014); 12,62 h para difloxacin en ovejas; (Marín y col., 2007) y 13,68 h para moxifloxacin también en ovejas (Cárceles y col., 2009).

VI.2.6.- Índices de eficacia

Para que los antimicrobianos concentración-dependiente sean efectivos deben poder llegar al sitio en el que se encuentran las bacterias en concentración suficiente y durante un tiempo adecuado, para provocar con ello la curación clínica y bacteriológica del animal y disminuir la aparición de resistencias. Por ello, la eficacia de un antimicrobiano depende del fármaco, del microorganismo y del hospedador y de la relación que entre ellos se alcance para conseguir o no el éxito terapéutico (San Andrés y Boggio, 2007). Esta relación viene dada por el estudio de los índices de eficacia antimicrobiana, que permite hacer una predicción de la actividad y seguridad de un régimen terapéutico. Al ser marbofloxacin un antimicrobiano concentración dependiente (Walker y Dowling, 2006), se utilizan como indicadores los resultados obtenidos de AUC/MIC_{90} y $C_{m\acute{a}x}/MIC_{90}$ (McKellar y col., 2004; Toutain y Lees, 2004). Ambos parámetros están estrechamente relacionados, y son importantes para asegurar eficacia antimicrobiana (Martínez y col., 2006).

Respecto a estos parámetros farmacocinéticos nos referiremos en primer lugar al AUC; al haber trabajado sólo con administraciones únicas, consideramos adecuado utilizar el $AUC_{0-\infty}$, según lo recomendado por (Mouton y col., (2005), frente a la AUC_{0-24} que se utiliza en aquellos casos en los que se ha alcanzado el estado estacionario con administraciones múltiples. Por otro lado, en nuestro estudio, la diferencia entre ambos parámetros no supera el 5,6 % (ver tabla V.20) por lo que la influencia en la selección de uno u otro no tendría trascendencia sobre estos índices. Para el caso de $C_{m\acute{a}x}$ utilizamos este parámetro en la administración SC, y para las administraciones IV el valor C_0 , que si bien es un parámetro extrapolado, dado que la primera extracción se hizo a los 5 minutos, no difiere de los valores alcanzados a ese tiempo, (2.67/3.00 en 3 días; 2.67/3.07 a los 10 días; 2.45/2.75 a los 24 días; 3.18/4.06 a los 50 días; 3.08/3.8 a los 80 días; por tanto, utilizaremos las concentraciones calculadas por el modelo no compartimental, que ha sido el común en las dos vías).

En cuanto al parámetro farmacodinámico MIC, su valor depende de diferentes factores siendo la presión antibiótica, a la que se somete la cepa del patógeno correspondiente, uno de los que influye más directamente sobre dicho parámetro. Esta presión antibiótica a su vez está en relación con la época y región en las que se llevó a cabo el estudio y la especie animal de procedencia de dicha cepa, entre otros. Por ello es necesario, en la medida de lo posible, realizar los cálculos de índices de eficacia con valores de MIC, obtenidos lo más recientemente posible y referidos a la especie animal sobre la que se han llevado a cabo los estudios cinéticos.

En nuestro caso utilizamos cepas obtenidas de diferentes procesos infecciosos padecidos por las llamas que componen el hato de la UCC. Nuestro objetivo, en este

aspecto no era llevar a cabo un estudio epidemiológico, sino disponer de datos que nos permitieran comparar los resultados de MIC de este estudio con los referidos por diferentes autores. Conviene hacer referencia a que la marbofloxacina se ha aprobado recientemente para su utilización en animales de compañía en Argentina por lo que la presión antimicrobiana en patógenos locales es muy escasa por no decir nula, puesto que apenas se ha utilizado en la región. En la bibliografía se mencionan como patologías más frecuentes en la especie *Lama glama* las de tipo digestivo y respiratorio (Martín Espada y col., 2010; Mercado y col., 2004), pero en los individuos que habitan en el campus de nuestra universidad se presentaron fundamentalmente patologías del sistema digestivo y de piel. Esto se debe a diversas circunstancias: por un lado el clima en la zona de nuestra facultad es más benigno que en la puna Jujeña y estas llamas tienen un cuidado más personalizado debido a que es una tropa pequeña (25 individuos); además del alimento que consiguen en el monte próximo, se les suplementa con fardos de alfalfa y eventualmente maíz y disponen de resguardo bajo techo cuando las condiciones climáticas así lo requieren. Este tipo de manejo favorece por un lado, la aparición de patologías digestivas debido a la diversidad de vegetación disponible en el monte en diferentes momentos y la administración de suplementación que en ocasiones no realizan los períodos de acostumbamiento de la flora de proventrículos e intestino y, por otra parte, las patologías de piel, principalmente heridas provocadas por ramas, espinas, animales depredadores y alambres. En cambio las afecciones respiratorias son prácticamente inexistentes debido al manejo anteriormente mencionado.

Una vez obtenidos los valores de MIC correspondientes, se decidió utilizar los datos de MIC₉₀ frente a los de MIC₅₀ siguiendo las recomendaciones de diferentes autores (Lees y Aliabadi, 2002; Toutain y col., 2002). Como se puede apreciar en la figura VI.1, la evolución de los valores de MIC₉₀ cambia a lo largo del tiempo debido a la presión antibiótica y comienzan a aparecer cepas que se distancian del comportamiento “medio” de su especie, por lo que se requiere aumentar las concentraciones de manera que abarquen al mayor número de estas cepas. Dado la capacidad de selección de cepas mutantes que posee las fluoroquinolonas y por tanto la marbofloxacina, se debe intentar afectar al máximo número de cepas, y reducir todo lo posible la carga bacteriana, ya que la frecuencia de mutación espontánea para generar resistencia es 10^{-6} - 10^{-8} en poblaciones no homogéneas. Si el tamaño del inóculo (carga bacteriana o UFC) es mayor en un orden de magnitud a la inversa de la frecuencia de mutación para generar resistencias (ej: cargas de 10^8 - 10^{10}) (Jumbe y col., 2003) es muy probable que se produzca dicha mutación. La emergencia de resistencias es debido a un predecible sobrecrecimiento de subpoblaciones existentes con un bajo nivel de susceptibilidad inicial (Schentag y Scully, 1999).

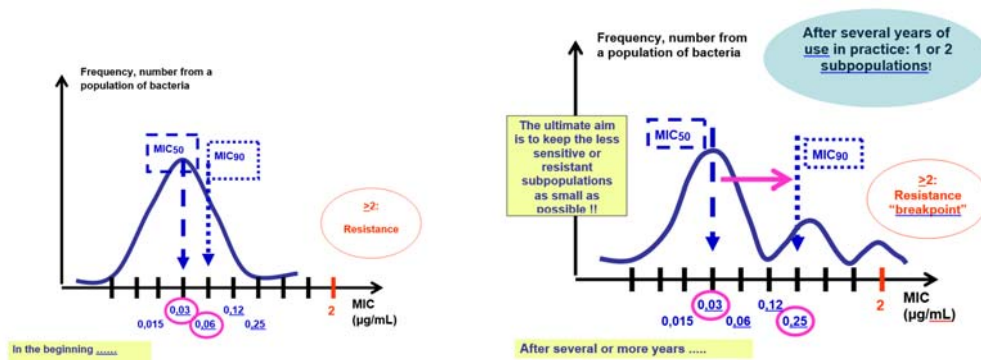


Figura VI.1.- Evolución de los valores de MIC₉₀, cambia a lo largo del tiempo debido a la presión antibiótica

Los valores que obtuvimos para *Escherichia coli* (MIC₉₀ = 0,03 µg/ml) y para *Staphylococcus aureus* (MIC₉₀ = 0,25 µg/ml) son similares a los obtenidos por otros autores en bovinos, como se puede apreciar en la tabla VI.2.

Tabla VI.2- Valores de MIC₉₀ de marbofloxacina, para diferentes bacterias.

Bacteria	MIC ₉₀ (µg/ml)	Autor
<i>Salmonella sp</i>	0,073	Meunier y col., 2004
<i>M. heamolytica</i>	0,42	Meunier y col., 2004
	0,1	Ismail y El-Kattan, 2007
	0,04	Aliabadi y Lees, 2002
<i>P. multocida</i>	0.170	Sarmiento y col., 2007
	0,56	Meunier y col., 2004
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,057	Sarmiento y col., 2007
	0,3	Shem-Tov y col., 1997
	0,229	Schneider y col., 2004
	0,25 – 0,5	Gániere y col., 2004
<i>Escherichia colli</i>	0,12 y 1	Meunier y col., 2004
	0,008 a 0,06	Meunier y col., 2004
<i>Haemophyllus</i>	0,145	Sarmiento y col., 2007
<i>Mycoplasma spp.</i>	0,03	Sarmiento y col., 2007
	0,48	Sarmiento y col., 2007

Los índices de eficacia obtenidos por nosotros, (tabla V.25). muestran que la dosis utilizada de 5 mg/kg en los tekes, supera los valores de 125 en animales de 3 días y es de 117 a los 10 días y oscila entre 60 y 78 en las demás edades y tras la administración subcutánea. Teniendo en cuenta que *Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram+, podemos decir que en todos los casos supera ampliamente el valor de 30 que diferentes autores (Wright y col., 2000; Ambrose y col., 2000) consideran como suficiente para este tipo de bacterias e incluso en las primera edades también alcanzaría la relación necesaria para ser eficaz frente a Gram-. (McKellar y col., 2004; Toutain y Lees, 2004; Toutain y col., 2002, Craig, W.A., 1998; Forrest y col., 1993; Schentag, J.J., 2000; Preston y col., 1998). Por otro lado, la marbofloxacina alcanza concentraciones intracelulares más altas que en plasma, por lo que (Mouton y col., 2005) estos índices pueden ser más eficaces para bacterias intracelulares.

En el caso de las cepas de *E coli*, dado la alta sensibilidad mostrada ($MIC = 0.03 \mu\text{g/ml}$), los índices obtenidos superan ampliamente los requerimientos, en todas las edades. No obstante dada la gran variabilidad de sensibilidad que presentan las cepas de *E coli* causante de procesos entéricos, podemos considerar que aquellas que presentaran una sensibilidad de $MIC < 0.22 \mu\text{g/ml}$ serían susceptibles de ser tratadas con esta dosis, en tekes menores de 10 días que padecieran enterocolitis y $MIC < 0.11 \mu\text{g/ml}$ para las otras edades estudiadas.

En cuanto al indicador de eficacia $C_{\text{máx}}/MIC_{90}$, podemos observar que en todas las edades supera el valor de 10 y excepto a los 24 días, en el resto supera el valor 12, valor en el que coinciden diferentes autores como necesario para mostrarse eficaz y disminuir la aparición de nuevas resistencias. No obstante, se considera que estos índices no son los más adecuados para prevenir la emergencia de resistencias, siendo las MPC (*Mutant Prevention Concentration*) las que proporcionan mayor seguridad en este aspecto (Kesteman y col., 2009; Wetzstein H., 2005), junto con el índice AUC/MPC (Olofsson y col., 2007). Los valores obtenidos por diferentes autores para las MPC de varias fluoroquinolonas, son al menos 10 veces superiores a los de MIC (Marcusson y col., 2005, Pasquali y Manfreda, 2007), por lo que conseguir concentraciones plasmáticas suficientes para asegurar la no emergencia de resistencias va a requerir dosis muy elevadas, que a veces no son compatibles con la seguridad en animales muy jóvenes que pueden verse afectados por la toxicidad de las fluoroquinolonas.

En nuestro estudio tan solo en las cepas de *E coli* se podría conseguir ese índice AUC/MPC > 35 dada la elevada susceptibilidad de las cepas encontradas.

Por su parte, Pellet y col., (2006) confirmaron la potente actividad bactericida de la marbofloxacina frente a cepas de *E. coli* con diferentes niveles de sensibilidad. La marbofloxacina desde un primer momento demostró una alta potencia *in vitro* frente a cepas de *Enterobacteriaceae* y otros Gram- y Gram+, como estafilococos y estreptococos (Spreng y col., 1995).

En especies de la familia *Camelidae*, fue estudiada la eficacia de este fármaco en camellos (Laraje y col., 2006) donde se concluyó que para bacterias con MIC_{90} mayor de $0,2 \mu\text{g/ml}$ sería recomendable una dosis superior a 2 mg/kg . También se han obtenido índices de eficacia en llamas, pero utilizando datos de MIC_{90} procedentes de bovinos (Rubio-Langre y col., 2012), mostrando en las diferente cepas estudiadas valores de AUC/ MIC_{90} y de $C_{\text{máx}}/MIC_{90}$ que indicarían una buena eficacia de la molécula.

Se han llevado a cabo estudios de eficacia de otras fluoroquinolonas como la moxifloxacina (Abd E- Aty y col., 2007) y difloxacina (Abo-El Shoud y Goudah, 2009) en camellos y enrofloxacina en llamas Rubio, S., (2010) pero utilizando cepas bacterianas obtenidas en otras especies animales.

Por lo anteriormente expuesto consideramos que el comportamiento cinético de los tekes, varía a medida que se van desarrollando, siendo los 24 días una edad clave en este proceso y como consecuencia de las modificaciones cinéticas observadas y a su vez las notables diferencias que presentan frente a los animales adultos, consideramos que es necesario aplicar regímenes posológicos distintos en función de la edad, ya que de

otro modo se corre el riesgo de provocar fallos terapéuticos. Concretamente los animales de menos edad (hasta 10 días) presentan una baja capacidad de eliminación basada en su bajo valor de aclaramiento y por ende un mayor valor de MRT y AUC, que los mayores de 24 días, que se traduce en índices de eficacia variables, más favorables para los primeros días de vida, que por otro lado, es cuando son más propensos a sufrir procesos entéricos o respiratorios.

Para finalizar, y como buena práctica clínica, podemos concluir que la utilización de fluoroquinolonas se debe reservar siempre como terapia de segunda elección, cuando otros tratamientos no se hayan mostrado eficaces, o se conozca el agente causal que requiera este tipo de fármaco. Así mismo, en la medida de lo posible, se debe instaurar el tratamiento lo antes posible, para que el tamaño de la carga bacteriana sea menor (metafilaxis).

VII.- CONCLUSIONES

- 1º.- El modelo farmacocinético que mejor define los datos obtenidos, para todas las edades es el modelo bicompartimental abierto de primer orden con ponderación ($1/y^2$).
- 2º.- Las concentraciones iniciales plasmáticas (C_0), obtenidas en nuestro estudio, tras la administración IV, en forma de bolo, de 5 mg/kg de marbofloxacin, indican que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las distintas edades. Estas concentraciones son comparativamente más bajas que las descritas en llamas adultas o en otras especies por diferentes autores, lo que podría ser debido al elevado volumen de distribución que presentan los tekes, y a diferencias metodológicas relacionadas con los tiempos en los que se toma la muestra C_0 .
- 3º.- La capacidad de aclaramiento reflejada en los valores de Cl se incrementa de manera significativa con la edad. Los 24 días de edad son clave en el proceso de desarrollo por la maduración y funcionalidad, especialmente renal. Lo cual, unido al aumento de pH de la orina, derivado del cambio de alimentación por introducir el forraje en la dieta, justificaría el incremento en la tasa de eliminación.
- 4º.- El tiempo de permanencia de la marbofloxacin en los tekes es inversamente proporcional a la edad, siendo los valores de tiempo medio de residencia (MRT) y semivida de eliminación terminal ($t_{1/2\lambda}$) significativamente diferentes entre las edades estudiadas, 3 y 10 días *versus* 24, 50 y 80 días, siendo una vez más la edad de 24 días el momento más crítico del proceso.
- 5º.- La administración subcutánea a los 35 días de edad es una buena alternativa clínica a la vía endovenosa, dado la ausencia de reacción en los puntos de administración, y su alta biodisponibilidad, superior al 90%, en relación con las edades más próximas.
- 6º.- Los valores de MIC a partir de las cepas obtenidas de llamas estabuladas en la UCC, para *S. aureus* y *E. coli* muestran una sensibilidad elevada frente a marbofloxacin y coinciden con las descritas en la bibliografía. No se han encontrado cepas resistentes, posiblemente a consecuencia de la baja presión antibiótica a la que están sometidos estos animales en esta región.
- 7º.- Los índices de eficacia AUC/MIC_{90} y C_{max}/MIC , obtenidos para cepas locales de *S. aureus* y *E. coli* demuestran que la dosis utilizada de 5 mg/kg en los tekes de las diferentes edades, supera ampliamente los valores establecidos por diferentes autores, por lo que podría considerarse potencialmente eficaz frente a patologías causadas por cepas sensibles de los agentes ensayados.
- 8º.- Es necesario establecer regímenes posológicos que permitan alcanzar concentraciones séricas que prevengan la aparición de resistencias (niveles MPC que impidan seleccionar cepas mutantes). Si bien, en la práctica clínica, estas concentraciones son tan elevadas que a veces son incompatibles con el uso seguro en animales muy jóvenes, que podrían verse afectados por la toxicidad de las fluoroquinolonas.
- 9º.- Es necesario aplicar regímenes posológicos individualizados en función de la edad, para evitar el riesgo de fracasos terapéuticos.

10^o.- Los datos obtenidos sugieren la necesidad de reservar siempre la marbofloxacin como terapia de segunda elección, en concordancia con las recomendaciones de las normativas de uso racional y uso prudente de antibióticos en medicina veterinaria.

VIII.- BIBLIOGRAFÍA

Abd El-Aty A, Goudah A, Shah S, Shin H, Shimoda M, Shim J. Pharmacokinetic variables of moxifloxacin in healthy male camels following intravenous and intramuscular administration. *JVPT*. 2007;30(6):586-591.

Abo-El-Sooud K & Goudah A. Pharmacokinetics and intramuscular bioavailability of difloxacin in dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *Vet J*. 2009;179(2):282-286.

AEMPS. [Base de datos en línea] Fichas técnicas de uso veterinario: Ficha técnica de Marbocyl 10% Solución inyectable. Madrid: Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad; c1997 – [02/07/2015; 23/07/2015]. Disponible en: <https://sinaem4.aemps.es/consavetPub/especialidad.do?metodo=verFichaWordPdf&codigo=1221%20ESP&formato=pdf&formulario=FICHAS>

Aguilar Sola MS. Estudio comparativo del comportamiento cinético de marbofloxacina en cabras, tras la administración de dosis única intravenosa y en administración conjunta con dexametasona [Proyecto de investigación para optar a la obtención del DEA]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria; 2009 (inédito).

Albarellos G, Montoya L, Landoni M. Pharmacokinetics of marbofloxacin after single intravenous and repeat oral administration to cats. *Vet J*. 2005;170(2):222-229.

Aliabadi FS, Ali BH, Landoni M, Lees P. Pharmacokinetics and PK-PD modelling of danofloxacin in camel serum and tissue cage fluids. *Vet J*. 2003;165(2):104-118.

Aliabadi FS & Lees P. Pharmacokinetics and pharmacokinetic/pharmacodynamic integration of marbofloxacin in calf serum, exudate and transudate. *JVPT*. 2002;25(3):161-174.

Aliabadi FS & Lees P. Antibiotic treatment for animals: effect on bacterial population and dosage regimen optimisation. *Int J Antimicrob Agents*. 2000;14(4):307-313.

Alós J. Quinolonas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(5):290-297.

Al-Taher A. Camels following parenteral administration. *J Anim Vet Adv*. 2014;13(5):313-321.

Ambrose PG & Grasela DM. The use of Monte Carlo simulation to examine pharmacodynamic variance of drugs: fluoroquinolone pharmacodynamics against *Streptococcus pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2000;38(3):151-157.

Aminimanizani A, Beringer P, Jelliffe R. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of the newer fluoroquinolone antibacterials. *Clin Pharmacokinet*. 2001;40(3):169-187.

Amurrio D. La quinina. Historia y síntesis. *Revista Acta Nova*. 2011; 1(3):241-247.

Andersson MI & MacGowan AP. Development of the quinolones. *J Antimicrob Chemother.* 2003;51(1):1-11.

Andes D & Craig, WA. Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review. *Int J Antimicrob Agents.* 2002;19(4):261-268.

Apley MD & Upson DW. Lung tissue concentration and plasma pharmacokinetics of danofloxacin in calves with acute pneumonia. *Am J Vet Res.* 1993;54:937-943.

Aramayona JJ, Mora J, Fraile LJ, Garcia MA, Abadia AR, Bregante MA. Penetration of enrofloxacin and ciprofloxacin into breast milk, and pharmacokinetics of the drugs in lactating rabbits and neonatal offspring. *Am J Vet Res.* 1996;57(4):547-553.

Atef M, El-Banna H, Abd El-Aty A & Goudah A. Pharmacokinetics of difloxacin in goats. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 2002;109(7):320-323.

Baggot JD. The bioavailability and disposition of antimicrobial agents in neonatal animals. En: Baggot JD (ed.) *The Physiological Basis Of Veterinary Clinical Pharmacology.* London: Blackwell Science; 2001. p 252-266.

Balikci E, Kizil O, Karapinar T, Karahan M, Ozdemir H, Dabak M. Efficacy of marbofloxacin for naturally occurring contagious caprine pleuropneumonia. *Small Rumin Res.* 2008; 77(1):75-79.

Baroni EE, Rubio S, De Lucas JJ, San Andrés MD, San Andrés MI. Comparison of pharmacokinetics of marbofloxacin after subcutaneous administration of various multiple-dose regimens to water buffalo calves (*Bubalus bubalis*). *Am J Vet Res.* 2014;75(12):1049-1055.

Baroni EE, Rubio S, Rodriguez C, De Lucas JJ, Fernandez H, Andres MS. Pharmacokinetic interactions of marbofloxacin with anti-inflammatory drugs in buffalo calves. *Vet Rec.* 2011;169(7):182.

Barry AL. In vitro activities of the quinolone antimicrobial agents. En: Fernandes PB (ed.) *International symposium on quinolones.* Barcelona: JR Prous; 1989. p 237-254.

Belew S, Kim JY, Hossain MA, Park JY, Lee SJ, Park YS, et al. Pharmacokinetics of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administration in Hanwoo, Korean native cattle. *J Vet Med Sci.* 2015;77(3):327-329.

Bergogne-Bérézin E. Clinical role of protein binding of quinolones. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41(10):741-750.

Bermingham EC & Papich MG. Pharmacokinetics after intravenous and oral administration of enrofloxacin in sheep. *Am J Vet Res.* 2002;63(7):1012-1017.

Bertino, J. & Fish D. The safety profile of the fluoroquinolones. *Clin Ther.* 2000;22(7):798-817.

Bidgood TL & Papich MG. Plasma and interstitial fluid pharmacokinetics of enrofloxacin, its metabolite ciprofloxacin, and marbofloxacin after oral administration and a constant rate intravenous infusion in dogs. *JVPT.* 2005;28,(4)329-341.

Bigger JW. The bactericidal action of penicillin on *Staphylococcus pyogenes*. *Ir J Med Sci* (1926-1967). 1944;19(11):553-568. Bousquet-Mélou A, Bernard S, Schneider M, Toutain P. Pharmacokinetics of marbofloxacin in horses. *Equine Vet J.* 2002;34(4):366-372.

Bousquet-Mélou A, Cester CC, Serthelon JP, Gruet P & Toutain PL. Pharmacodynamic study of the potential epileptic effect of combination therapy with marbofloxacin-tolfenamic acid in the dog. *JVPT.* 1997;20(1):186.

Bousquet-Mélou A, Schneider M, Woehrlé F, Toutain P. Safe use of marbofloxacin with medetomidine-ketamine combination in dog. *JVPT.* 2000;23(1):L3.

Bregante M, Saez P, Aramayona JJ, Fraile L, García MA, Solans C. Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin in mice, rats, rabbits, sheep and cows. *Am J Vet Res.* 1999;60,1111-1116.

Bregante MA, De Jong A, Aramayona JJ, García MA, Solans C, Rueda S. Protein binding of fluoroquinolones applied to livestock and companion animals. *JVPT.* 2000;23(1)B16.

Brown SA. Fluoroquinolones in animal health. *JVPT.* 1996;19(1):1-14.

Bryskier A & Chantot J. Classification and structure-activity relationships of fluoroquinolones. *Drugs.* 1995;49(2):16-28.

Bundtzen RW, Gerber AU, Cohn DL, Craig WA. Postantibiotic suppression of bacterial growth. *Rev Infect Dis.* 1981;3(1):28-37.

Cafrune M, Rebuffi G, Cabrera R, Aguirre D. Fasciola hepatica en llamas (*Lama glama*) de la Puna Argentina. *Vet Arg.* 1996;13(128):570-574.

Cantón R & Morosini M. Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. *FEMS Microbiol Rev.* 2011;35(5):977-991.

Cantón R. Concentración preventiva de mutantes: ¿Un nuevo parámetro de actividad antimicrobiana con valor clínico? *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2006;24(10):599-602.

Carbone M, Pennisi MG, Masucci M, De Sarro A, Giannone M, Fera MT. Activity and postantibiotic effect of marbofloxacin, enrofloxacin, difloxacin and ciprofloxacin against feline *Bordetella bronchiseptica* isolates. *Vet Microbiol.* 2001;81(1):79-84.

Bibliografía

Cárceles CM, Escudero E, Fernández-Varón E, Marín P. Pharmacokinetics after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration of moxifloxacin in sheep. *Vet J*. 2009;180(3):343-347.

Cárceles CM, Serrano JM, Marín P, Escudero E, Fernández-Varón E. 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*. 2006;53(6):300-4.

Carpenter JW, Hunter RP, Olsen JH, Henry H, Isaza R, Koch DE. Pharmacokinetics of marbofloxacin in blue and gold macaws (*Ara ararauna*). *Am J Vet Res*. 2006;67(6):947-950.

Carretero M, Rodriguez C, Andrés MS, Fores P, De Lucas J, Nieto J, et al. Pharmacokinetics of marbofloxacin in mature horses after single intravenous and intramuscular administration. *Equine Vet J*. 2002; 34(4):360-365.

Cester C, Schneider M, Toutain P. Comparative kinetics of two orally administered fluoroquinolones in dog: enrofloxacin versus marbofloxacin. *Rev Med Vet*. 1996;147(10):703-716.

Christensen J, Smith B, Murdane S, Hollingshead N. The disposition of five therapeutically important antimicrobial agents in llamas. *JVPT*. 1996;19(6):431-438.

Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284 (5418):1318–1322.

Cox SK, Cottrell MB, Smith L, Papich MG, Frazier DL, Bartges J. Allometric analysis of ciprofloxacin and enrofloxacin pharmacokinetics across species. *JVPT*. 2004; 27(3):139–146.

Cox SK. Allometric scaling of marbofloxacin, moxifloxacin, danofloxacin and difloxacin pharmacokinetics: a retrospective analysis. *JVPT*. 2007;30(5):381-386.

Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical infectious diseases*. 1998;26(1):1-10.

Craig WA. Post-antibiotic effects in experimental infection models: relationship to in-vitro phenomena and to treatment of infections in man. *J Antimicrob Chemother*. 1993;31(D):149-158.

Davis J, Foster D, Papich M. Pharmacokinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its active metabolite ciprofloxacin in calves. *JVPT*. 2007;30(6):564-571.

de Lucas J, Rodriguez C, Waxman S, Gonzalez F, De Vicente M, San Andres M. Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous and intramuscular administration in young domestic ostrich (*Struthio camelus*). *JVPT*. 2004;27(2):119-122.

de Lucas JJ, Rodríguez C, Waxman S, González F, Uriarte I, San Andrés MI. Pharmacokinetics of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administration to ostriches. *Vet J.* 2005. 170, (3)364-368.

de Lucas JJ, Navarro JL, Rubio S, Vignolo PE, Asis VC, Gonzalez F, et al. Pharmacokinetic behaviour of enrofloxacin in greater rheas following a single-dose intramuscular administration. *Vet J.* 2008;175(1):136-138.

Díaz D. Comportamiento farmacocinético de la marbofloxacin en bovinos de diferentes edades y relación PK-PD frente a mastitis estafilocócicas [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria; 2012.

Ding H, Li Y, Chen Z, Zeng Z. Plasma and tissue cage fluid pharmacokinetics of marbofloxacin after intravenous, intramuscular, and oral single-dose application in pigs. *JVPT.* 2010;33(5):507-510.

Dova SW, San Andrés MD, Gonzalez F, San Andrés MI, de Lucas JJ, Rodriguez C. Pharmacokinetic behavior and pharmacokinetic/pharmacodynamic integration of marbofloxacin after subcutaneous administration in goats. *Vet Journal.* 2007;174(2)425-427.

Dowling PM, Wilson RC, Tyler JW, Duran SH. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in ponies. *JVPT.* 1995;18(1): 7-12.

Drlica K, Zhao X, Blondeau JM, Hesje C. Low correlation between MIC and mutant prevention concentration. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(1):403-404.

Drlica K & Zhao X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1997;61(3):377-392.

Eagle H, Fleischman R, Musselman AD. The effective concentrations of penicillin in vitro and in vivo for streptococci, pneumococci, and *Treponema pallidum*. *J Bacteriol.* 1950;59 (5):625-643.

Efthymiopoulos C, Bramer SL, Maroli A. Effect of age and gender on the pharmacokinetics of grepafloxacin. *Clin Pharmacokinet.* 1997;33(1):9-17.

El Banna HA & El Sooud KA. Disposition kinetics of ciprofloxacin in lactating goats. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 1998;105(1):35-38.

Elmas M, Tras B, Kaya S, Bas AL, Yazar E, Yarsan E. Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular administration in Angora goats. *Can J Vet Res.* 2001; 65(1):64-67.

Elsheikh H, Taha A, Khalafallah A, Osman I. Disposition kinetics of enrofloxacin (Baytril 5%) in sheep and goats following intravenous and intramuscular injection using a microbiological assay. *Res Vet Sci.* 2002;73(2):125-129.

Bibliografía

EMA/CVMP/133/99-Final. Guidelines for the conduct of pharmacokinetic studies in target animal-species. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004355.pdf

EMA/CVMP/133/99 Final. Guideline for the demonstration of efficacy for veterinary 5 medicinal products containing antimicrobial substances. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004492.pdf

EMA/CVMP/016/00-Rev.2 Guideline on the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products. 11 April 2011. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP)

EMA/CVPM/SAGAM/184651/2005, January 2006. Public statement on the use of fluoroquinolones in food-producing animals in the European Union: development of resistance and impact on human and animal health. EMA/CVPM/SAGAM/184651/2005, February, 2007

Guideline on the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products 11 April 2011 EMA/CVMP/016/00-Rev.2 Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP)

EudraLex. Volume 8. Notice to applicants and Guideline Veterinary medicinal products. The rules governing medicinal products in the European Union, 2005. http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-8/index_en.htm

Estrella E. Historia de la Ciencia y de la Técnica. Las Culturas Precolombinas, vol 10. Madrid: Akal, S.A.; 1992.

Fera MT, Maugeri TI, Giannone M, Gugliandolo E, La Camera G, Blandin, M, Carbone, M. In vitro susceptibility of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* to different antimicrobial agents. *Int J Antimicrob Agents*. 2003;21(5):488-491.

Fernandes PB, Shipkowitz N, Bower RR, Jarvis KP, Weisz J, Chu DT. In-vitro and in-vivo potency of five new fluoroquinolones against anaerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 1986;18(6):693-701.

Fernández-Baca S. Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo de la crianza y aprovechamiento de los camélidos sudamericanos en la región Andina. TCP/RLA/2914. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2005.

Fernández-Palacios, R. Estudio farmacocinético de formulaciones poliméricas de liberación controlada para marbofloxacin en caprino [Tesis doctoral]. Murcia: Universidad de Murcia. Departamento de Farmacología; 2014.

Ferran AA, Kesteman AS, Toutain PL, Bousquet-Mélou A. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of the influence of inoculum size on the selection of

resistance in *Escherichia coli* by a quinolone in a mouse thigh bacterial infection model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(8):3384–3390.

Fish DN. Fluoroquinolone adverse effects and drug interactions. *Pharmacotherapy.* 2001; 21(10P2):253S-272S

Fitton A. The quinolones. *Clin Pharmacokinet.* 1992;22(1):1-11.

Flodr H, Wheeler JC, Krüger P, Olazábal J, Rosadio R. Pruebas de campo para evaluar calidad calostrual en la alpaca. *Rev Investig Vet Perú.* 2012;23(3):307-316.

Forrest A, Nix DE, Ballow CH, Goss TF, Birmingham MC, Schentag JJ. Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37(5):1073-1081.

Fowler ME. *Medicine And Surgery Of South American Camelids: Llama, Alpaca, Vicuña, Guanaco.* Iowa. Iowa State University Press/AMES; 1989.

Frank E. Situación actual de los Camélidos Sudamericanos en Argentina. FAO. 2005.

Frazier D.L, Thompson L, Trettien A, Evans EI. Comparison of fluoroquinolone pharmacokinetic parameters after treatment with marbofloxacin, enrofloxacin, and difloxacin in dogs. *JVPT.* 2000;23(5):293-302.

Friis C. Penetration of danofloxacin into the respiratory tract tissues and secretions in calves. *Am J Vet Res.* 1993;54(7):1122-1127.

Fudge, A.M. 1999. *Laboratory Medicine. Avian and Exotic Pets.* W.B.Saunders Company

Gandolf AR, Papich MG, Bringardner AB, Atkinson MW. Pharmacokinetics after intravenous, subcutaneous, and oral administration of enrofloxacin to alpacas. *Am J Vet Res.* 2005;66(5):767-771.

Ganière JP, Mangion C, Péridy M. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactericides de la cefquinome, la marbofloxacin, la tylosine et la spyramicine en solution dans du lait vis-a-vis de bacteries isolées de mammites bovines. *Revue Med.* 2004;155 (8-9):411-416

García Castillo, M. *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con fibrosis quística: dinámica poblacional y análisis ecológico según morfotipo, crecimiento de biopelículas y frecuencia de mutación [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid. Facultad de Medicina; 2013.

Bibliografía

García I, Pascual A, Ballesta S, Joyanes P, Perea EJ. Intracellular penetration and activity of gemifloxacin in human polymorphonuclear leukocytes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(11):3193-3195

García-Montijano M, Waxman S, de Lucas JJ, Luaces I, Zalba J, González F, et al. The pharmacokinetic behaviour of marbofloxacin in Eurasian buzzards (*Buteo buteo*) after intraosseous administration. *Vet J.* 2006;171(3):551-555.

García-Montijano M, Waxman S, De Lucas JJ, Luaces I, De San Andrés MD, Rodríguez C. Disposition of marbofloxacin in vulture (*Gyps fulvus*) after administration of a single dose. *Res Vet Ciencia.* 2011;90(2):288-290.

García-Montijano M, Waxman S, Sánchez C, Quetglas J, San Andrés, MI, González F, Rodríguez C. The disposition of marbofloxacin in common buzzards (*Buteo buteo*) after intravenous administration. *JVPT.* 2001;24(2):155-157.

García-Ovando HG, Gorla C, Poloni G, Trotti N, Prieto G, Errecalde C. Intravenous pharmacokinetics of ciprofloxacin in goats. *Intl J Antimicrob Agents.* 2000;15(1),77-79.

Garry F. Patología clínica de llamas. *Vet Clin Norte Am Alimentos Anim Pract.* 1989; 5(1):55-70. Gavrielli R, Yagil R, Ziv G, Creveld C, Glickman A. Effect of water deprivation on the disposition kinetics of enrofloxacin in camels. *JVPT.* 1995;18(5):333-339.

Gebru Awji E, Tassew DD, Lee J, Lee S, Choi M, Reza MA, et al. Comparative mutant prevention concentration and mechanism of resistance to veterinary fluoroquinolones in *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet Dermatol.* 2012; 23(4):376-e69.

Gebru E, Choi MJ, Lee SJ, Damte D, Park SC. Mutant-prevention concentration and mechanism of resistance in clinical isolates and enrofloxacin/marbofloxacin-selected mutants of *Escherichia coli* of canine origin. *J Med Microbiol.* 2011;60(Pt 10):1512-1522.

Gérvás J. La resistencia a los antibióticos, un problema de salud pública. *Atención primaria.* 2000;25(8):589-596.

Giguere S, Sweeney RW, Belanger M. Pharmacokinetics of enrofloxacin in adult horses and concentration of the drug in serum, body fluids, and endometrial tissues after repeated intragastrically administered doses. *Am J Vet Res.* 1996;57(7):1025-1030.

Giles C, Magonigle R, Grimshaw W, Tanner A, Risk J, Lynch M, et al. Clinical pharmacokinetics of parenterally administered danofloxacin in cattle. *JVPT.* 1991;14(4):400-410.

Gips M & Soback S. Norfloxacin nicotinate pharmacokinetics in unweaned and weaned calves. *JVPT.* 1996;19(2):130-134.

Gips M & Soback S. Norfloxacin pharmacokinetics in lactating cows with subclinical and clinical mastitis. *JVPT.* 1999;22(3):202-208.

GLP. Directive of the European Parliament and of the Council. 2004/9/EC. 11 February. The inspection and verification of good laboratory practice

Gobernado M y Santos M. Quinolonas. En: Tratamiento antimicrobiano. 3º ed. Madrid: Drobic L.Ergon; 2002. p. 323- 348.

González F, Rodriguez C, Nieto J, De Vicente M, San Andres M, Andrés MS. Age-related differences in norfloxacin pharmacokinetic behavior following intravenous and oral administration in sheep. *Vet Q.* 1997;19(4):145-150.

González F. Comportamiento farmacocinético de la norfloxacina en óvidos de diferentes edades [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria; 2002.

González Pérez C, Martín Mateos EJ, Almendral Parra MJ. Análisis aplicado a la Ingeniería Química, 2008-09. Salamanca: Universidad de Salamanca. 2008. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10366/56052>

González F, San Andrés M, Nieto J, San Andrés M, Waxman S, Vicente M, et al. Influence of ruminal distribution on norfloxacin pharmacokinetics in adult sheep. *JVPT.* 2001;24(4):241-245.

Gootz TD, McGuirk PR, Moynihon MS, Haskell SL. Placement of alkyl substituents on the C/ piperazine ring of fluoroquinolones: Dramatic differential effects on mammalian topoisomerase II and DNA gyrase. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38(1):130-133.

Goudah A & Mouneir S. Comparative pharmacokinetics of difloxacin in goat kids and lambs. *Small Rumin Res.* 2008;78(1):186-192.

Goudah A, Abd El-Aty AM, Regmi NL, Shin HC, Shimoda M, Shim, J.H. Single-dose pharmacokinetics of marbofloxacin in Egyptian buffalo (*Bubalus bubalis* L.) steers. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2007;120,(5-6):215-220.

Granneman GR, Guay DR. The influence of age on the pharmacokinetics of temafloxacin. *Am J Med.* 1991;91(6):S71-S75.

Griffiths NM, Hirst BH, Simmons NL. Active intestinal secretion of the fluoroquinolone antibacterials ciprofloxacin, norfloxacin and pefloxacin; a common secretory pathway? *J Pharmacol Exp Ther.* 1994;269(2):496-502.

Grobbe M, Lübke-Becker A, Wieler LH, Froyman R, Friederichs S, Filios S. Comparative quantification of the in vitro activity of veterinary fluoroquinolones. *Veterinary Microbiology.* 2007;124(1-2):73-81.

Gutierrez-Zufiaurre, N. Relación entre estructura, actividad y efectos adversos de las quinolonas. *Revista Española de Quimioterapia.* 2004;17(3):232-243.

Bibliografía

Haines GR, Brown MP, Gronwall RR, Merritt KA. Serum concentrations and pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intragastric administration to mares. *Can J Vet Res.* 2000;64(3):171-177.

Haritova AM, Rusenova NV, Parvanov PR, Lashev LD, Fink-Gremmels J. Integration of pharmacokinetic and pharmacodynamic indices of marbofloxacin in turkeys. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(11):3779-3785.

Haritova A, Lashev L, Pashov D. Pharmacokinetics of enrofloxacin in lactating sheep. *Res Vet Ciencia.* 2003;74(3):241-245.

Harrison TM, Dubielzig RR, Harrison TR, McClean M. Enrofloxacin-induced retinopathy in a guanaco (*Lama guanicoe*). *J Zoo Wildl Med.* 2006;37(4):545-548.

Harron D, Nation G, Tinson A, Dhanasekharan S, Sheen R. Effects of administration routes and dose on the pharmacokinetics of enrofloxacin in young and mature camels. *JVPT.* 1997;20(3):54-55.

Hassouan MK. Desarrollo de nueva metodología analítica para la determinación de quinolonas en alimentos de origen animal [Tesis doctoral]. Granada: Universidad de Granada. Departamento de Química Analítica; 2006.

Horn D L, Hewlett D, Alfalla C, Peterson S, Opal SM. Limited tolerance of ofloxacin and pyrazinamide prophylaxis against tuberculosis. *N Engl J Med.* 1994;330(17):1241-1241.

Hu X, Luo Y, Zhou Q. Simultaneous Analysis of Selected Typical Antibiotics in Manure by Microwave-Assisted Extraction and LC-MS. *Chromatographia.* 2010;71(3-4):217-223.

Hutchison J, Garry F, Johnson L, Quackenbush S, Getzy D, Jensen W, et al. Immunodeficiency syndrome associated with wasting and opportunistic infection in juvenile llamas: 12 cases (1988-1990). *J Am Vet Med Assoc.* 1992;201(7):1070-1076.

Idowu OR, Peggins JO, Cullison R, Von Bredow J. Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in lactating dairy cows and beef steers following intravenous administration of enrofloxacin. *Res Vet Sci.* 2010;89(2):230-235.

Ismail M & El-Kattan Y. Comparative pharmacokinetics of marbofloxacin in healthy and *Mannheimia haemolytica* infected calves. *Res Vet Sci.* 2007;82(3):398-404.

IUPAC Nomenclature & Units Symbols. Their Usage in Spectrochemical Analysis. *Pure Appl. Chem.* 1976; 45:105.

Jha K, Roy BK, Singh RCP. The effect of induced fever on the biokinetics of norfloxacin and its interaction with probenecid in goats. *Vet Res Commun.* 1996;20(5):473-479.

Juan-García A, Picó Y, Font G. Determinación de residuos de quinolonas en alimentos de origen animal mediante electroforesis capilar espectrometría de masas. *Revista de toxicología*. 2005; 22(1):1-12.

Jumbe N, Louie A, Leary R, Liu W, Deziel MR, Tam VH, et al. Application of a mathematical model to prevent in vivo amplification of antibiotic-resistant bacterial populations during therapy. *J Clin Invest*. 2003;112(2):275-285.

Kaartinen L, Salonen M, Älli L, Pyörälä S. Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous, intramuscular and subcutaneous injections in lactating cows. *JVPT*. 1995;18(5):357-362.

Kesteman AS, Ferran AA, Perrin-Guyomard A, Laurentie M, Sanders P, Toutain PL, et al. Influence of inoculum size and marbofloxacin plasma exposure on the amplification of resistant subpopulations of *Klebsiella pneumoniae* in a rat lung infection model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(11):4740-4748.

Knoll U, Glünder G, Kietzmann M. Comparative study of the plasma pharmacokinetics and tissue concentrations of danofloxacin and enrofloxacin in broiler chickens. *JVPT*. 1999; 22(4):239-246.

Kowalski AP, Maboni G, Espindola JP, Foletto A, Bandeira Junior G, Pötter L, Vargas ACD. Temporal profile of antimicrobial resistance exhibited by strains of *Staphylococcus* spp. isolated from cases of bovine mastitis for 20 years (1992-2011). *Ciência Rural*, (AHEAD). 2015: 00-00.

Kreil V, Otero P, Ambros I, Waxman-Dova S, Montoya L, Albarells G, et al. Pharmacokinetics of enrofloxacin in llamas (*Lama glama*). *Revista InVet*. 2001;3(1):55-62.

Laboratorios Vétuquinol. Marbofloxacin Reference Book. Lure, France; 1999.

Lai OR, Marín P, Laricchiuta P, Marzano G, Crescenzo G, Escudero E. Pharmacokinetics of marbofloxacin in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) after single intravenous and intramuscular doses. *J Zoo Wildl Med*. 2009;40(3):501-507.

Laraje R, Talmi A, Bounaga R, Bengoumi M, El Hraiki A, Laurentie M. Comparative pharmacokinetics of marbofloxacin after a single intramuscular administration at two dosages to camels (*Camelus dromedarius*). *JVPT*. 2006;29(3):229-231.

Lavy E, Ziv G, Glickman A. Intravenous disposition kinetics, oral and intramuscular bioavailability and urinary excretion of norfloxacin nicotinate in donkeys. *JVPT*. 1995;18, (2)101-107.

Lecoeur-Bitchatchi S & Kolf-Clauw M. Les nouvelles quinolones en médecine vétérinaire. *Rec Med Vet*. 1998;175(1-2):7-15.

Bibliografía

Lees P & Aliabadi FS. Antimicrobianos que inhiben la función de los ácidos nucleicos. En: Botana L.M, editor. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana; 2002. p. 484-492.

Li X & Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*. 2004;64(2):159-204.

Lipsky BA & Barker CA. Fluorquinolone toxicity profiles: A review focusing on newer agents. *Clin Infect Dis*. 1999;28(2):352-361.

Llorente P, Leoni L, Martínez Vivot M. Leptospirosis en camélidos sudamericanos. Estudio de prevalencia serológica en distintas regiones de la Argentina. *Archivos de medicina veterinaria*. 2002;34(1):59-68.

Lode H, Borner K, Koeppe P. Pharmacodynamics of fluoroquinolones. *Clin Infect Dis*. 1998;27(1):33-39.

Lomaestro BM & Bailie GR. Quinolone-cation interactions: a review. *DICP*. 1991; 25(11):1249-1258.

Lombardo Agüí M. Nuevas metodologías analíticas para la determinación de quinolonas y otros residuos en muestras alimentarias y ambientales. [Tesis doctoral]. Granada: Universidad de Granada, Facultad de Ciencias; 2012.

Lorenzutti MA. Farmacocinética de marbofloxacin en cabras: análisis microbiológico versus cromatográfico [Proyecto de investigación para optar a la obtención del DEA]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria; 2009 (inédito).

Lüders C, Baroni EE, Rubio S, De Lucas JJ, Diaz DC, San Andres MI. Pharmacokinetic behavior and pharmacokinetic/pharmacodynamic indices of marbofloxacin after intravenous, subcutaneous, and intramuscular administrations in buffalo calves (< 10 days old). *JVPT*. 2012; 35(3):301-304.

Lüders C. Estudio de las características farmacocinéticas de marbofloxacin en búfalos (*bubalus bubalis*) de diferentes edades tras la administración IV, IM, SC y PO en dosis única [Tesis doctoral]. Esperanza: Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Ciencias Veterinarias; 2014.

Ma D, Cook DN, Alberti M, Pon, .G, Kikaido H, Hearst JE. Genes *acrA* and *acrB* encode a stress-induced efflux system of *Escherichia coli*. *J Mol Microbio*. 1995;16(1):45-55.

Mandell LA, Ball P, Tillotson G. Antimicrobial safety and tolerability: differences and dilemmas. *Clin Infect Dis*. 2001;32(1):S72-9.

Mann DD & Frame GM. Pharmacokinetic study of danofloxacin in cattle and swine. *Am J Vet Res*. 1992;53(6):1022-1026.

Marchbanks CR. Drug-Drug interactions with fluoroquinolones. *Pharmacotherapy*. 1993;13(2P2):23S-28S.

Marcusson LL, Olofsson SK, Komp Lindgren P, Cars O, Hughes D. Mutant prevention concentrations of ciprofloxacin for urinary tract infection isolates of *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother*. 2005;55(6):938-943.

Marín P, Álamo L, Escudero E, Fernández-Varón E, Hernandis V, Cárceles C. Pharmacokinetics of marbofloxacin in rabbit after intravenous, intramuscular, and subcutaneous administration. *Res Vet Sci*. 2013;94(3):698-700.

Marín R, Romero G, Brihuega B, Auad G. Seroprevalencia de enfermedades infecciosas en llamas (lama glama) de la provincia de jujuy, argentina. Vº Congreso De Especialistas En Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, 2007.

Marín P, Lai O, Laricchiuta P, Marzano G, Di Bello A, Cárceles C, et al. Pharmacokinetics of marbofloxacin after a single oral dose to loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Res Vet Sci*. 2009;87(2):284-286.

Marín R, Rodríguez D, Parreño V. Prevalencia sanitaria en llamas (*Lama glama*) de la provincia de Jujuy, Argentina. *Revista Veterinaria Argentina*. Dirección Provincial de Desarrollo Ganadero, Gobierno de la Provincia de Jujuy. Ministerio de Producción. *Ley Ovina*. 2009; 25-422.

Martí S. Farmacología y terapia en cachorros y gatitos. En: Prats A, autor. *Neonatología y pediatría canina y felina*. Buenos Aires: Intermédica; 1990. p. 279-310.

Martín Espada C, Pinto Jiménez CE, Cid Vázquez MD. Camélidos sudamericanos: estado sanitario de sus crías. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 2010;4(1):37-50.

Martínez M, McDermott P, Walker R. Pharmacology of the fluoroquinolones: a perspective for the use in domestic animals. *Vet J*. 2006;172(1):10-28.

Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *The Lancet*. 1998;351(9105):797-799.

McKellar Q, Sanchez Bruni S, Jones D. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *JVPT*. 2004;27(6):503-514.

McKellar Q. Clinical relevance of the pharmacologic properties of fluorquinolones. *Suppl Compend Contin Educ Pract Veterinary*. 1996;18(2):14-21.

McKellar Q, Gibson I, Monteiro A, Bregante M. Pharmacokinetics of enrofloxacin and danofloxacin in plasma, inflammatory exudate, and bronchial secretions of calves following subcutaneous administration. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43,(8)1988-1992.

Bibliografía

Mengozi G, Intorre L, Bertini S, Soldani G. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and intramuscular administrations in sheep. *Am J Vet Res.* 1996;57,(7)1040-1043.

Mercado EC, Rodríguez SM, Elizondo AM, Marcoppido G, Parreño V. Isolation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* from a South American camelid (*Lama guanicoe*) with diarrhea. *J Clin Microbiol.* 2004;42(10):4809-4811.

Meunier D, Acar J, Martel J, Kroemer S, Valle M. Seven years survey of susceptibility to marbofloxacin of bovine pathogenic strains from eight European countries. *Int J Antimicrob Agents.* 2004;24(3):268-278.

Mevius D, Breukink H, Guelen P, Jansen T, Greve Bd. Pharmacokinetics, metabolism and renal clearance of flumequine in veal calves. *JVPT.* 1990;13(2):159-169.

Michot JM, Seral C, Van Bambeke F, Mingeot-Leclercq MP, Tulkens PM. Influence of efflux transporters on the accumulation and efflux of four quinolones (ciprofloxacin, levofloxacin, garenoxacin, and moxifloxacin) in J774 macrophages. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(6):2429-2437.

Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants. *Chemosphere.* 2003;52(7):1233-1244.

Monlouis J, Jong Ad, Limet A, Richez P. Plasma pharmacokinetics and urine concentrations of enrofloxacin after oral administration of enrofloxacin in dogs. *JVPT.* 1997;20(1):61-63.

Morton DB, Abbot D, Barclay R, Close BS, Ewbank R, Gask D, Heath, Mattic S, Poo T, Sothee J, Thompson A, Trussel B, West C, Jennings M. Extracción de sangre en los mamíferos y animales de laboratorio. *Laboratory Animal.* 1993. 27, 1-22,

Mosquito S, Ruiz J, Bauer JL, Ochoa TJ. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2011;28(4):648-656.

Mouton JW, Dudley MN, Cars O, Derendorf H, Drusano GL. Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *J Antimicrob Chemother.* 2005;55(5):601-607.

Muñoz M, Llovería P, Santos M, Abadia A, Aramayona J, Bregante M. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in sheep after single intravenous or intramuscular administration. *Vet Q.* 1996;18(2):45-48.

Nakagawa T, Ishigai M, Kato M, Hayakawa N, Kinoshita H, Okutomi T et al. Pharmacokinetics of the new fluoroquinolone balofloxacin in mice, rats, and dogs. *Arzneimittelforschung.* 1995;45(6):719-722.

Neu HC. Synergy of fluoroquinolones with other antimicrobial agents. *Review of Infectious Diseases*. 1989;11(5):S1025-S1035.

Neyfakh AA. The multidrug efflux transporter of *Bacillus subtilis* is a structural and functional homolog of the *Staphylococcus* NorA protein. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36(2):484-485.

Nielsen P & Gyrd-Hansen N. Bioavailability of enrofloxacin after oral administration to fed and fasted pigs. *Pharmacol Toxicol*. 1997;80(5):246-250.

Nikaido H. Multidrug efflux pumps of gram-negative bacteria. *J Bacteriol*. 1996;178(20):5853-5859.

Nouws J. Pharmacokinetics in immature animals: a review. *J Anim Sci*. 1992;70(11):3627-3634.

Nowara A, Burhenne J, Spiteller M. Binding of fluoroquinolone carboxylic acid derivatives to clay minerals. *J Agric Food Chem*. 1997;45(4):1459-1463.

Ogino T, Mizuno Y, Ogata T, Takahashi Y. Pharmacokinetic interactions of flunixin meglumine and enrofloxacin in dogs. *Am J Vet Res*. 2005;66(7):1209-1213.

Okezaki E, Nagata O, Kato H, Terasaki T, Nakamura M, Tsuji A. Serum protein binding of lomefloxacin, a new antimicrobial agent, and its related quinolones. *J Pharm Sci*. 1989;78(6):504-507.

Olofsson SK, Marcusson LL, Lindgren PK, Hughes D, Cars O. Selection of ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* in an in vitro kinetic model: relation between drug exposure and mutant prevention concentration. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 57(6):1116–1121.

Olofsson SK, Marcusson LL, Strömbäck A, Hughes D, Cars O. Dose-related selection of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother*. 2007; 60(4):795–801.

Orero A, Cantón E, Pemán J, Gobernado M. Penetración de los antibióticos en los polimorfonucleares humanos, con especial referencia a las quinolonas. *Rev Esp Quimioterap*. 2002;15(2):1-14.

Pallo-Zimmerman LM, Byron JK, Graves TK. Fluoroquinolones: then and now. *Compendium: Continuin Education for Veterinarians*. 2010; 9(1): E1-E9.

Pandini JA, da Silva Pinto FG, Muller JM, Weber LD, de Moura AC. Ocorrência e perfil de resistencia antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. *Arq Inst Biol*.2014;XX(X):1-6.

Pardo, A. Ética de la experimentación animal: directrices Legales y éticas contemporáneas. *Cuadernos de Bioética*. 2005;16(58):393-418.

Bibliografía

Park H, Kim TH, Bark K. Physicochemical properties of quinolone antibiotics in various environments. *Eur J Med Chem.* 2002;37(6):443-460.

Park SC, Yun HI, Choi YY, Oh TK. Pharmacokinetics of norfloxacin in horses and rabbits after intravenous, intramuscular or oral administration. In: *Proceedings of the 6th International Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology.* Edimburgo. 1994. p. 46-47.

Pasquali F & Manfreda G. Mutant prevention concentration of ciprofloxacin and enrofloxacin against *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Vet Microbiol.* 2007;119(2):304-310.

Pastor A & Cantón E. Interacciones de las bacterias y el antimicrobiano durante la fase de efecto postantibiótico. *Rev Esp Quimioterap.* 1999;12(4).

Pathania R & Sharma S. Pharmacokinetics and bioavailability of moxifloxacin in buffalo calves. *Res Vet Sci.* 2010;89(1):108-112.

Pellet T, Gicquel-Bruneau M, Sanders P, Laurentie M. Comparison of faecal and optimal growth conditions on in vitro pharmacodynamic activity of marbofloxacin against *Escherichia coli*. *Res Vet Sci.* 2006;80(3):324-335.

Pérez RD. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información terapéutica del sistema nacional de salud.* 1998;22(3):57-67.

Petracca K, Rioud J, Graser T, Wanner M. Pharmacokinetics of the gyrase inhibitor marbofloxacin: influence of pregnancy and lactation in sows. *J Vet Med Series A.* 1993;40(1-10):73-79.

Phillips I, King A, Shannon K. In vitro properties of the quinolones. In: Andriole, V.T. (Ed): *The Quinolones.* Academic Press, San Diego, California. 1998;81-116.

Phillips I King A, Shannon K. Comparative in-vitro properties of the quinolones. *The quinolones.* 2000:99-137.

Piddock, L.J. New quinolones and gram-positive bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38(2):163-169.

Piddock LJ. Mechanisms of fluoroquinolone resistance: an update 1994-1998. *Drugs.* 1999; 58(2):11-8.

Pinto Jiménez C, Martín Espada C, Cid Vázquez M. Camélidos Sudamericanos: estado sanitario de sus crías. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias.* 2010;4(1):37-50.

Plumb DC. Marbofloxacin. En: Manual de farmacología veterinaria. Buenos Aires: Inter-Médica; 2010. p. 682-684.

Polk RE. Drug-drug interactions with ciprofloxacin and other fluoroquinolones. Am J Med. 1989;87(5):S76-S81.

Preston SL, Drusano GL, Berman AL, Fowler CL, Chow AT, Dornseif B, et al. Pharmacodynamics of levofloxacin: a new paradigm for early clinical trials. JAMA. 1998;279(2):125-129.

Puntel M, Fondevila N, Viera JB, O'Donnell V, Marcovecchio J, Carrillo B, et al. Serological survey of viral antibodies in llamas (*Lama glama*) in Argentina. J Vet Med, Series B. 1999;46(3):157-162.

Rabbaa L, Dautrey S, Colas-Linhart N, Carbon C, Farinotti R. Absorption of ofloxacin isomers in the rat small intestine. Antimicrob Agents Chemother. 1997;41(10):2274-2277.

Rahal A, Kumar A, Ahmad A, Malik J, Ahuja V. Pharmacokinetics of enrofloxacin in sheep following intravenous and subcutaneous administration. JVPT. 2006;29(4):321-324.

Raina R, Uppal R, Kumar V, Garg B. Pharmacokinetics and dosage of ciprofloxacin in buffalo calves. Indian J Anim Sci. 2000;70(5):475-477.

Ramesh S, Rao G, Malik J. Pharmacokinetic disposition of subcutaneously administered enrofloxacin in goats. Vet Res Commun. 2002;26(7):563-569.

Ramírez A. Enfermedades Infecciosas. En: Saúl Fernández Baca, editor. Avances y Perspectivas del Conocimiento de los Camélidos Sudamericanos. Santiago de Chile: FAO/RLA; 1991. p. 201.

Rao G, Ramesh S, Ahmad A, Tripathi H, Sharma L, Malik J. Disposition kinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin following intravenous administration of enrofloxacin in goats. Small Ruminant Research. 2002;44(1):9-15.

Rao G, Ramesh S, Ahmad A, Tripathi H, Sharma L, Malik J. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intramuscular administration of enrofloxacin in goats. Vet Res Commun. 2001;25(3):197-204.

Regnier A, Concordet D, Schneider M, Boisramé B, Toutain P. Population pharmacokinetics of marbofloxacin in aqueous humor after intravenous administration in dogs. Am J Vet Res. 2003;64(7):889-893.

Reiche R. Drug disposition in the newborn. En: Ruckebusch, Toutain, Koritz. Veterinary Pharmacology and Toxicology. Toulouse: MTP. 1982; 49-55.

Bibliografía

Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *The Lancet infectious diseases*. 2006;6(10):629-640.

Rothlin RP. Quinolonas. Revisión histórica. *Medicina-Buenos Aires*. 1999;59(1):3-7.

Rougier S, Galland D, Boucher S, Boussarie D, Vallé M. Epidemiology and susceptibility of pathogenic bacteria responsible for upper respiratory tract infections in pet rabbits. *Vet Microbiol*. 2006;115(1-3):192-8.

Rubio, S. Comportamiento farmacocinético de la marbofloxacin y de la enrofloxacin en llamas (*Lama glama*) [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria; 2011.

Rubio-Langre S, De Lucas JJ, Litterio NJ, Aguilar S, Boggio JC, San Andrés MI. Pharmacokinetic behavior of marbofloxacin after intravenous, subcutaneous and intramuscular administrations in llamas (*Lama glama*). *Small Rumin Res*. 2012;106(1):64-69.

Ruckebusch, Toutain, Koritz. *Veterinary Pharmacology and Toxicology*. Toulouse: MTP. 1982; 49-55.

San Andrés Larrea M y Boggio, J.C. Introducción a los antimicrobianos. En: *Antimicrobianos y Antiparasitarios en Medicina Veterinaria*. Buenos Aires: Intermédica; 2007. p. 1-24.

Sanchez Bruni S, Jones D, Small J, McKellar Q. Effects of formulation concentration on intravenous pharmacokinetics, chirality and in vitro solubility of oxfendazole and its metabolites in sheep. *JVPT*. 2005;28(5):467-473.

Sanders CC. Mechanisms responsible for cross-resistance and dichotomous resistance among the quinolones. *Clin Infect Dis*. 2001;32(1):1-8.

Sappal R, Chaudhary RK, Sandhu HS, Sidhu PK. Pharmacokinetics, urinary excretion and plasma protein binding of danofloxacin following intravenous administration in buffalo calves (*Bubalus bubalis*). *Vet Res Commun*. 2009;33(7):659-667.

Sarmiento P, Monti M, Videla RR. Administración intravenosa de marbofloxacin en bucerros. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 2007;(2):444-451.

Sastoque EC. Tabaco, quina y añil en el siglo XIX: Bonanzas efímeras. Bogotá: Credencial, 1989; 2011/03/01 [citado 2013/09/10]. Disponible en: <http://www.banrepcultural.org/blaavirtual/revistas/credencial/marzo2011/tabaco-quina-anil-siglo-xix>

Satoh Y, Sugiyama K, Chiba K, Tamura, Hashimoto, K. Qt-prolonging effects of sarpafloxacin, a fluoroquinolone antibiotic, assessed in the in vivo canine model with monophasic action potential monitoring. *J Cardiovasc Pharm* 36 (2000),pp 510-515

Scheld WM. Maintaining fluoroquinolone class efficacy: review of influencing factors. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(1):1-9.

Schentag JJ & Scully BE. Antimicrobial therapy and vaccines. In: Yu VL, Merigan TC Jr, Barriere SL, eds. *Quinolones*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1999. p. 875-901.

Schneider M, Paulin A, Dron F, Woehrlé F. Pharmacokinetics of marbofloxacin in pigs after intravenous and intramuscular administration of a single dose of 8 mg/kg: dose proportionality, influence of the age of the animals and urinary elimination. *JVPT.* 2014;37(6):523-530.

Schneider M, Thomas V, Boisrame B, Deleforge J. Pharmacokinetics of marbofloxacin in dogs after oral and parenteral administration. *JVPT.* 1996;19(1):56-61.

Schneider M, Valle M, Woehrlé F, Boisrame B. Pharmacokinetics of marbofloxacin in lactating cows after repeated intramuscular administrations and pharmacodynamics against mastitis isolated strains. *J Dairy Sci.* 2004;87(1):202-211.

Schneider M, Woehrlé F, Boisramé, B. Pharmacokinetics of marbofloxacin in rabbits. *JVPT.* 2000;23(1):B42.

Šeol B, Naglič T, Madić J, Bedeković M. In vitro antimicrobial susceptibility of 183 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from dogs to selected antipseudomonal agents. *J Vet Med, Series B.* 2002;49(4):188-192.

Sharma P, Ahmad A, Sharma L, Varma R. Pharmacokinetics of enrofloxacin and the rate of formation of its metabolite ciprofloxacin following intravenous and intramuscular single dose administration to male buffalo calves. *Vet J.* 2003;166(1):101-104.

Shem-Tov M, Ziv G, Glickman A, Saran A. Pharmacokinetics and penetration of danofloxacin from the blood into the milk of ewes. *Vet Res.* 1997;28(6):571-579.

Shem-Tov M, Rav-Hon O, Ziv G, Lavi E, Glickman A, Saran, A. Pharmacokinetics and penetration of danofloxacin from the blood into the milk of cows. *JVPT.* 1998;21(3): 209-213.

Sidhu P, Landoni M, Aliabadi F, Lees P. PK-PD integration and modeling of marbofloxacin in sheep. *Res Vet Sci.* 2010;88(1):134-141.

Skoufos J, Christodoulouopoulos G, Fragkou I, Tzora A, Gougoulis D, Orfanou D, et al. Efficacy of marbofloxacin against respiratory infections of lambs. *Small Rumin Res.* 2007;71(1):304-309.

Shlosberg A, Ershov E, Bellaiche M, Hanji V, Weisman Y, Soback S. The inhibitory effects of the fluoroquinolone antimicrobials norfloxacin and enrofloxacin on hepatic microsomal cytochrome P-450 monooxygenases in broiler chickens. *Drug Metabol Drug Intera.* 1997. 14(2):109-122

Soback S, Gips M, Bialer M, Bor A. Effect of lactation on single-dose pharmacokinetics of norfloxacin nicotinate in ewes. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38(10):2336-2339.

Sörgel F, Kinzig M. Pharmacokinetics of gyrase inhibitors, Part 2: Renal and hepatic elimination pathways and drug interactions. *Am J Med.* 1993;94(3A):56S-69S.

Spreng M, Deleforge J, Thomas V, Boisrame B, Drugeon H. Antibacterial activity of marbofloxacin. A new fluoroquinolone for veterinary use against canine and feline isolates. *JVPT.* 1995;18(4):284-289.

Stahlmann R. Safety profile of the quinolones. *J Antimicrob Chemother.* 1990;26(D):31-44.

Stass H & Dalhoff A. The integrated use of pharmacokinetic and pharmacodynamics models for the definition of breakpoints. *Infection* 33, 29-35. 2005 Supplement 2

Sukul P, Lamshöft M, Kusari S, Zühlke S, Spitteller M. Metabolism and excretion kinetics of 14 C-labeled and non-labeled difloxacin in pigs after oral administration, and antimicrobial activity of manure containing difloxacin and its metabolites. *Environ Res.* 2009;109(3):225-231.

Tafur Garzón MA. Farmacocinética y residuos de marbofloxacin en pollos broiler. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid; 2000.

Tálens-Visconti R. Actividad antimicrobiana in vitro de nuevas 6-fluoroquinolonas de administración por vía oral. Relación estructura-actividad. Tesis doctoral. Departamento de Farmacia, Universidad de Valencia; 2002.

Thomas V, Deleforge J, Boisramé B. Pharmacokinetics of marbofloxacin in preruminant and ruminant cattle. In: *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT)*, Edimburgo. 1994; 60.

Thomas V, Guillaudeau L, Thomas E, Boisrame B. Update on the sensitivity of recent European canine and feline pathogens to marbofloxacin. *Vet Q.* 1997;19(1):52-53.

Thomas E, Caldow G, Davot J. A field comparison of the efficacy and tolerance of marbofloxacin in the treatment of bovine respiratory disease. *JVPT.* 2001;24(5):353-358.

Tohamy MA. Age-related intramuscular pharmacokinetics of cefquinome in sheep. *Small Rumin Res.* 2011;99(1):72-76.

Toutain P & Bousquet-Mélou A. Plasma clearance. *JVPT.* 2004;27(6):415-425.

Toutain P & Bousquet-Mélou A. How antibiotic dosage regimens based on PK/PD concepts may be an important contribution to the resistance problem. *Proceeding of the XXIV World Buiatrcs Congress, Nice 2006.* 421-430

Toutain P, Del Castillo JR, Bousquet-Mélou A. The pharmacokinetic–pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Res Vet Sci.* 2002;73(2):105-114.

Toutain P & Lees P. Integration and modelling of pharmacokinetic and pharmacodynamic data to optimize dosage regimens in veterinary medicine. *JVPT.* 2004;27(6):467-477.

Vancutsem PM, Babish JG, Schwark WS. The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *Cornell Vet.* 1990;80(2):173-186.

Varma R, Ahmad A, Sharma L, Aggarwal P, Ahuja V. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its active metabolite ciprofloxacin in cows following single dose intravenous administration. *JVPT.* 2003;26(4):303-305.

Vázquez MDC. Sanidad de alpacas en la etapa neonatal: manual para estudiantes y profesionales de veterinaria. Madrid: Complutense; 2010.

VICH. Buenas Prácticas Clínicas (GCP: CVMP/VICH/595/98-FINAL, 1998) y de Laboratorio (GLP: Community legislation in Directives 87/18/EEC13, 1986 y Community legislation in Directives 88/320/EEC14, 1988)

VICH GL43. Guidance for Industry: Target Animal Safety for Veterinary Pharmaceutical Products, July 2008

VICH. Guidelines on Good Clinical Practice (GCP). Topic GL 9. CVMP/VICH/595/98-FINAL

Vilá, B. Camélidos sudamericanos. Buenos Aires: Eudeba, Colección Ciencia Joven 40; 2012.

Walker RD. The use of fluoroquinolones for companion animal antimicrobial therapy. *Aust Vet J.* 2000;78(2):84-90.

Walker RD & Dowling PM. Fluoroquinolones. 4ta ed. In: Giguère S, Prescott JF, Baggot D, Walker RD and Dowling PM (eds.), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine.* Oxford: Blackwell Publishing; 2006.

Wamberg S, Sandgaard NC, Bie P. Simultaneous determination of total body water and plasma volume in conscious dogs by the indicator dilution principle. *J Nutr.* 2002;132(6):1711S-1713S.

Watt B & Brown FV. Is ciprofloxacin active against clinically important anaerobes? *J Antimicrob Chemother.* 1986;17(5):605-613.

Bibliografía

Waxman S, Rodriguez C, González F, De Vicente M, San Andrés M, San Andrés M. Pharmacokinetic behavior of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administrations in adult goats. *JVPT*. 2001;24(6):375-378.

Waxman S, San Andrés M, Gonzalez F, De Lucas J, San Andres M, Rodriguez C. Influence of *Escherichia coli* endotoxin-induced fever on the pharmacokinetic behavior of marbofloxacin after intravenous administration in goats. *JVPT*. 2003;26(1):65-69.

Waxman S, San Andrés M, Gonzalez F, San Andres M, De Lucas J, Rodriguez C. Age-related changes in the pharmacokinetics of marbofloxacin after intravenous administration in goats. *JVPT*. 2004;27(1):31-35.

Wetzstein H. Comparative mutant prevention concentrations of pradofloxacin and other veterinary fluoroquinolones indicate differing potentials in preventing selection of resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(10):4166-4173.

Whitehead CE. Neonatal diseases in llamas and alpacas. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2009;25(2):367-384.

WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. Noruega: Norwegian Institute of Public Health; 2015 [actualizado 05/05/2015; citado 25/09/2015]. Disponible en: http://www.whocc.no/atcvet/atcvet_index/?code=QJ01MA93

Wildermuth BE, Griffin CE, Rosenkrantz WS, Boord MJ. Susceptibility of *Pseudomonas* isolates from the ears and skin of dogs to enrofloxacin, marbofloxacin, and ciprofloxacin. *J Am Anim Hosp Assoc*. 2007;43(6):337-341.

Wise R. A review of the clinical pharmacology of moxifloxacin, a new 8-methoxyquinolone, and its potential relation to therapeutic efficacy *Clin. Drug Invest*. 1999;17(5):365-388.

Wolfson JS & Hooper DC. Fluoroquinolone antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*. 1989;2(4):378-424.

Wright DH, Brown GH, Peterson ML, Rotschafer JC. Application of fluoroquinolone pharmacodynamics. *J Antimicrob Chemother*. 2000;46(5):669-683.

Yoon JH, Brooks RI, Khan A, Pan H, Bryan J, Zhan J, Budsberg SC, Mueller PO, Halper J. The effect of enrofloxacin on cell proliferation and proteoglycans in horse tendon cells. *Cell Biol Toxicol* 20 (2204), pp 41-51.

Zeng Z, Fung K. Effects of experimentally induced *Escherichia coli* infection on the pharmacokinetics of enrofloxacin in pigs. *JVPT*. 1997;20(1):39-40.

Zhanel GG. Influence of pharmacokinetic and pharmacodynamic principles on antibiotic selection. *Curr Infect Dis Rep*. 2001;3(1):29-34.

Zlotos G, Buücker A, Kinzig-Schippers M, Sorgel F, Holzgrabe U. Plasma protein binding of gyrase inhibitors. *J Pharm Sci.* 1998;87(2):215-220.

IX.- ANEXOS

Tabla IX.1.- Hematología y bioquímica sanguínea de los tekes de 3 días de edad, previo a la administración de la marbofloxacina

HEMATOLOGÍA	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media y D.E
Hematocrito (%)	27	30	32	33	28	31	30,17 ± 2,32
Hemoglobina (g/dl)	9,8	15,4	11,4	10,3	9,7	14,1	11,78 ± 2,20
Glóbulos rojos (10 ⁶ /μl)	10,1	14,2	11,4	9,8	13,7	14,1	12,22 ± 1,86
VCM (fentolitros)	26,7	21,1	28,1	33,7	20,4	22,0	25,34 ± 4,69
HCM (pg)	9,7	10,8	10,0	10,5	7,1	10,0	9,69 ± 1,23
CHCM (g/dl)	36,3	51,3	35,6	31,2	34,6	45,5	39,10 ± 6,98
Reticulocitos (%)	0,92	1,1	0,4	1,2	0,8	1,3	0,95 ± 0,30
Leucocitos (*10 ³ /μl)	12,7	20,1	11,9	8,7	7,4	12,9	12,28 ± 4,05
Neutrófilos en banda (%)	3,69	3,27	3,83	3,83	4,07	3,81	3,75 ± 0,24
Neutrófilos segmentados (%)	55,93	56,92	55,30	56,17	55,74	54,64	55,78 ± 0,71
Eosinófilos (%)	7,41	6,13	7,40	8,18	8,76	6,78	7,44 ± 0,86
Basófilos (%)	1,11	1,10	1,42	1,10	1,03	1,08	1,14 ± 0,13
Linfocitos (%)	26,72	27,53	28,35	26,60	26,50	29,07	27,46 ± 0,97
Monocitos (%)	5,14	5,05	3,69	4,11	3,91	4,64	4,42 ± 0,56
Plaquetas (*10 ³ /μl)	321,9	416,8	254,9	213,1	350,4	497,5	342,4 ± 95,2
BIOQUÍMICA							
Creatinina (mg/dl)	0,8	1,9	0,7	2,1	0,3	1,1	1,15 ± 0,65
Urea (mg/dl)	8	14	17	9	11	10	11,50 ± 3,10
GOT (IU/L)	243	325	167	398	420	126	279,83 ± 110,61
GPT (IU/L)	3	8	4	10	9	7	6,83 ± 2,54
FA (IU/L)	63	98	69	88	79	73	78,33 ± 11,77
PT (g/dl)	4,6	5,4	3,8	5,3	6,1	4,7	4,98 ± 0,72

Conclusiones

Tabla IX.2.- Hematología y bioquímica sanguínea de los tekes de 35 días de edad, previo a la administración de la marbofloxacin

HEMATOLOGÍA	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media y D.E
Hematocrito (%)	32	31	33	35	30	33	32,33 ± 1,75
Hemoglobina (g/dl)	10,4	14,8	12,7	12,1	11,9	15,8	12,95 ± 1,82
Glóbulos rojos (10 ⁶ /μl)	10,8	14,2	11,8	10,1	13,7	14,5	12,52 ± 1,71
VCM (fentolitros)	29,6	21,8	28,0	34,7	21,9	22,8	26,46 ± 4,75
HCM (pg)	9,6	10,4	10,8	12,0	8,7	10,9	10,40 ± 1,03
CHCM (g/dl)	32,5	47,7	38,5	34,6	39,7	47,9	40,14 ± 5,92
Reticulocitos (%)	1,1	0,9	0,7	1,1	0,9	1,2	0,98 ± 0,17
Leucocitos (*10 ³ /μl)	14,8	19,9	14,1	10,3	9,6	15,8	13,9 ± 3,1
Neutrófilos en banda (%)	2,90	3,06	2,82	2,38	2,10	2,90	2,69 ± 0,34
Neutrófilos segmentados (%)	55,03	57,89	56,32	58,39	58,76	56,20	57,10 ± 1,34
Eosinófilos (%)	4,66	4,17	5,48	3,83	3,39	3,23	4,12 ± 0,77
Basófilos (%)	1,33	0,93	0,63	0,71	0,90	0,78	0,88 ± 0,23
Linfocitos (%)	33,07	30,99	31,84	32,51	31,11	33,78	32,22 ± 1,01
Monocitos (%)	3,03	2,96	2,92	2,17	3,74	3,11	2,99 ± 0,46
Plaquetas (*10 ³ /μl)	298,7	428,9	324,4	206,9	334,8	455,8	341,6 ± 82,6
BIOQUÍMICA							
Creatinina (mg/dl)	1,5	1,7	0,9	2,1	1,4	1,9	1,58 ± 0,38
Urea (mg/dl)	11	17	22	14	17	18	16,50 ± 3,40
GOT (IU/L)	304	375	198	411	418	216	320,33 ± 88,38
GPT (IU/L)	4	6	5	8	8	5	6,00 ± 1,53
FA (IU/L)	86	79	83	76	91	82	82,83 ± 4,81
PT (g/dl)	5,4	5,5	5,2	5,6	6,1	5,3	5,52 ± 0,29

Tabla IX.3.- Hematología y bioquímica sanguínea de los tekes de 80 días de edad, previo a la administración de la marbofloxacina

HEMATOLOGÍA	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media y D.E
Hematocrito (%)	30	33	35	36	31	34	33,17 ± 2,32
Hemoglobina (g/dl)	10,1	15,9	12,4	12,1	11,7	15,1	12,88 ± 2,00
Glóbulos rojos (10 ⁶ /μl)	10,6	14,2	11,4	10,8	13,7	14,1	12,47 ± 1,56
VCM (fentolitros)	28,3	23,2	30,7	33,3	22,6	24,1	27,05 ± 4,02
HCM (pg)	9,5	11,2	10,9	11,2	8,5	10,7	10,34 ± 0,98
CHCM (g/dl)	33,7	48,2	35,4	33,6	37,7	44,4	38,84 ± 5,56
Reticulocitos (%)	1,2	1,1	0,9	1,3	1	1,2	1,12 ± 0,13
Leucocitos (*10 ³ /μl)	15,3	23,4	15,8	10,4	9,8	13,7	14,73 ± 4,49
Neutrófilos en banda (%)	0,29	0,33	0,34	0,31	0,30	0,35	0,32 ± 0,02
Neutrófilos segmentados (%)	58,31	59,53	58,27	57,65	55,77	59,55	58,18 ± 1,28
Eosinófilos (%)	3,18	3,18	2,58	3,96	3,74	2,39	3,17 ± 0,56
Basófilos (%)	0,12	0,07	0,07	0,07	0,14	0,04	0,08 ± 0,03
Linfocitos (%)	33,24	32,05	33,75	33,00	34,46	32,79	33,21 ± 0,75
Monocitos (%)	4,86	4,84	4,99	5,01	5,59	4,89	5,03 ± 0,26
Plaquetas (*10 ³ /μl)	433,5	568,9	400,1	398,8	564,2	548,7	485,7 ± 76,0
BIOQUÍMICA							
Creatinina (mg/dl)	1,6	1,4	2,1	2,2	1,1	1,7	1,68 ± 0,38
Urea (mg/dl)	16	25	17	13	27	21	19,83 ± 4,98
GOT (IU/L)	264	359	219	483	476	174	329,17 ± 120,12
GPT (IU/L)	3	7	2	7	9	6	5,67 ± 2,43
FA (IU/L)	58	77	64	76	70	58	67,17 ± 7,75
PT (g/dl)	5,1	4,7	6,7	6,1	6,9	5,1	5,77 ± 0,85

Tabla IX.4.- Valores de referencia (rango y media) de hematología y bioquímica sanguínea en tekes y llamas

HEMATOLOGÍA	< 1 mes	2 - 6 meses	Adultos
Hematocrito (%)	24-36 (30)	27-43 (35)	25-46 (35)
Hemoglobina (g/dl)	10,1-15,4 (12,7)	11,6-18,2 (14,9)	11,5-19,5 (15,5)
Glóbulos rojos (10 ⁶ /μl)	9,8-14,2 (12)	10,6-17,2 (13,9)	9,9-17,7 (13,8)
VCM (fentolitros)	24,49-25,35 (25,00)	25,47-25,00 (25,18)	25,25-25,99 (25,36)
HCM (pg)	10,31-10,85 (10,58)	10,94-10,58 (10,72)	11,62-11,02 (11,23)
CHCM (g/dl)	42,08-42,78 (42,33)	42,96-42,33 (42,57)	46,00-42,39 (44,29)
Reticulocitos (%)	x	x	x
Leucocitos (10 ³ /μl)	5,4 - 20,1 (12,7)	8,0 - 23,5 (15,7)	7,5 - 20,9 (14,2)
Neutrófilos en banda (%)	0 - 2,42 (1,91)	0 - 0,42 (0,31)	0 - 0,81 (0,59)
Neutrófilos segmentados (%)	19,09 - 78,32 (66,04)	34,99 - 62,02 (55,36)	41,73 - 72,99 (64,73)
Eosinófilos (%)	0 - 4,89 (3,87)	0 - 9,51 (7,11)	0,21 - 21,39 (15,80)
Basófilos (%)	0 - 0,66 (0,52)	0 - 1,00 (0,75)	0 - 1,40 (1,03)
Linfocitos (%)	21,41 - 24,74 (24,13)	18,37 - 41,96 (36,08)	9,19 - 23,20 (19,5)
Monocitos (%)	0 - 6,31 (4,91)	0 - 5,26 (3,93)	0 - 4,57 (3,36)
Plaquetas (%) ¹	x	x	200000 - 600000 (400000)
BIOQUÍMICA			
Creatinina (mg/dl)	0,3 - 2,7 (1,5)	1 - 2,4 (1,7)	1,1 - 2,9 (2)
Urea (mg/dl)	6 - 22 (14)	13 - 29 (21)	10 - 37 (24)
GOT (IU/L)	123 - 485 (304)	137 - 547 (342)	127 - 420 (274)
GPT (IU/L)	0 - 12 (6)	1 - 10 (6)	0 - 15 (7)
FA (IU/L)	170 - 1000 (585)	0 - 638 (369)	0 - 179 (89)
PT (g/dl)	3,8 - 6,9 (5,4)	4,2 - 6,9 (5,6)	5 - 7,4 (6,2)
Fowler, M., 1989; ¹ Garry, F., 1989			

