

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
Departamento de Toxicología y Farmacología



**INFLUENCIA DE DERIVADOS DE QUINOLONA SOBRE
LA CINÉTICA DE ANTIPIRINA EN PERROS, COMO
ÍNDICE DE INDUCCIÓN ENZIMÁTICA**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Luis Blas Anadón Navarro

Bajo la dirección de los doctores

Arturo Anadón Navarro
María Rosa Martínez Larrañaga

Madrid, 2002

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

**INFLUENCIA DE DERIVADOS DE QUINOLONA
SOBRE LA CINETICA DE ANTIPIRINA EN PERROS
COMO INDICE DE INDUCCION ENZIMATICA**

TESIS DOCTORAL

LUIS B. ANADON NAVARRO

MADRID 1993

LUIS B. ANADON NAVARRO

**INFLUENCIA DE DERIVADOS DE QUINOLONA
SOBRE LA CINETICA DE ANTIPIRINA EN PERROS
COMO INDICE DE INDUCCION ENZIMATICA**

Co-Directores :

**- Prof. Dr. Arturo Anadón Navarro
Catedrático de Toxicología y
Legislación Sanitaria
Universidad Complutense de Madrid**

**- Dra. María Rosa Martínez Larrañaga
Colaborador Científico del CSIC
Instituto de Farmacología y Toxicología
CSIC - UCM**

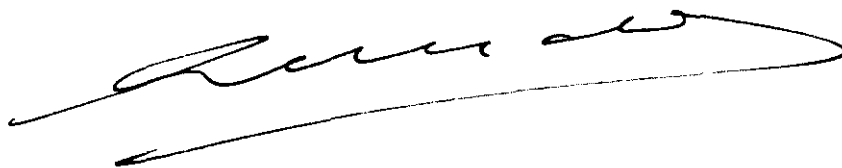
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Prof. Dr. Arturo Anadón Navarro, Catedrático de Toxicología y Legislación Sanitaria de la Universidad Complutense de Madrid

CERTIFICA : que Don LUIS B. ANADON NAVARRO ha realizado bajo mi dirección , y con la co-dirección de la Dra. Maria Rosa Martinez Larrañaga, su Tesis Doctoral titulada "**Influencia de derivados de quinolona sobre la cinética de antipirina en perros como índice de inducción enzimática**" en el Instituto Mixto de Farmacología y Toxicología, CSIC - UCM, Departamento de Toxicología y Farmacología de la Facultad de Veterinaria y Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, para optar al Grado de Doctor en Veterinaria.

Y para que así conste a los efectos oportunos, expido el presente certificado en Madrid a quince de Febrero de mil novecientos noventa y tres.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Arturo Anadón Navarro', written in a cursive style. The signature is positioned below the text of the certificate.

Deseo expresar mi agradecimiento

- Al Prof. Dr. Arturo Anadón Navarro, Catedrático de Toxicología y Legislación Sanitaria de la Universidad Complutense de Madrid, y a la Dra. Maria Rosa Martínez Larrañaga, Colaborador Científico del CSIC, por la Dirección de esta Memoria y por la formación científica recibida a lo largo del periodo de realización de mi Tesis Doctoral. Sus ayudas y colaboración, poniendo a nuestra disposición cuantos medios y consejos que pudiera necesitar, ha conducido a la realización de la presente Tesis Doctoral.

- Al Prof. Dr. Pedro Lorenzo Fernandez, Catedrático-Director del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, por su acogida e inestimable ayuda para la realización de nuestro trabajo.

- A mis compañeras del Equipo de Investigación, especialmente a la Dra. Maria Jesus Díaz Plaza, Dra. Pilar Bringas de la Lastra y Dña. Maria del Carmen Fernandez Felipe, por su colaboración y ayuda especial demostrada en todo momento.

- A todos mis compañeros del Instituto Mixto de Farmacología y Toxicología, CSIC - UCM, Departamento de Toxicología y Farmacología de la Facultad de Veterinaria y Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, ya que de una u otra forma han colaborado a la realización de nuestro trabajo.

- A Dn. Pedro Sancho Montañés por su valiosa ayuda en el manejo y cuidado de los animales utilizados en la presente Memoria.

A mis padres y hermanos

Este Trabajo de Investigación ha sido financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, Plan Nacional de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico, Programa Nacional de Salud y Farmacia, Proyecto SAF 92-0203.

I N D I C E

	pag.
1. <u>INTRODUCCION</u>	1
1.1. Fluoroquinolonas.	1
1.2. Estructura y propiedades fisicoquímicas.	4
1.3. Mecanismo de acción.	6
1.4. Actividad antimicrobiana.	12
1.4.1. Actividad antimicrobiana in vitro.	15
1.4.2. Actividad frente a bacterias resistentes	26
1.5. Desarrollo de resistencias.	28
1.6. Farmacocinética.	37
1.6.1. Absorción.	37
1.6.2. Distribución.	43
1.6.3. Metabolismo y excreción.	48
1.7. Toxicidad e interacciones farmacológicas.	54
1.8. Objetivos del trabajo.	71
2. <u>MATERIAL Y METODOS</u>	75
2.1. Protocolo experimental.	75
2.2. Ensayos laboratoriales de bioquímica clínica.	80
2.3. Ensayo analítico de antipirina.	81
2.4. Análisis de datos.	84
2.5. Fármacos y reactivos.	93

3. <u>RESULTADOS</u>	96
3.1. Tolerancia de las fluoroquinolonas y parámetros plasmáticos laboratoriales.	96
3.2. Farmacocinética de antipirina.	97
3.2.1. Farmacocinética de antipirina en plasma antes y tras el tratamiento con ciprofloxacina.	97
3.2.2. Farmacocinética de antipirina en plasma antes y tras el tratamiento con enrofloxacin.	98
3.2.3. Farmacocinética de antipirina en plasma antes y tras el tratamiento con norfloxacina.	99
4. <u>DISCUSION</u>	128
5. <u>CONCLUSIONES</u>	139
6. <u>BIBLIOGRAFIA</u>	142

INTRODUCCION

1. INTRODUCCION

1.1. Fluoroquinolonas

Los agentes antibacterianos pertenecientes al grupo de las 4-quinolonas constituyen una amplia familia de compuestos sintéticos de gran utilidad clínica en el tratamiento de infecciones bacterianas. En un principio, su principal uso fué su aplicación en infecciones bacterianas del tracto urinario, aunque posteriormente debido a su amplio espectro de actividad y buena difusión orgánica se han empleado en el tratamiento de infecciones sistémicas.

El primer miembro de esta familia de compuestos, obtenido de la purificación de la cloroquina, fué el ácido nalidíxico sintetizado en 1962. A partir de entonces, numerosas quinolonas han sido sucesivamente desarrolladas con el objetivo de conseguir un compuesto ideal que posea una alta potencia antibacteriana y amplio espectro de actividad, y una clara y reducida toxicidad selectiva con mínimos efectos secundarios, propiedades farmacológicas todas ellas que permitan un uso terapéutico en el tratamiento de infecciones bacterianas en un amplio rango de localizaciones corporales u orgánicas.

A partir del ácido nalidíxico se desarrollaron otras quinolonas tales como el ácido oxolínico, ácido pipemídico, ácido piromídico y cinoxalina, todas ellas denominadas de primera generación o quinolonas urinarias por su importante eliminación

renal. Al igual que el ácido nalidíxico, estas quinolonas poseen una excelente actividad frente a bacterias Gram-negativas, con espectros antibacterianos **in vitro** muy semejantes y con frecuentes resistencias antibacterianas, aunque no siempre cruzadas. Asimismo, poseen una farmacocinética muy definida, buena y rápida absorción digestiva, niveles plasmáticos significantes y una consistente y rápida eliminación urinaria a concentraciones netamente superiores a las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de los gérmenes sensibles.

Tras estas quinolonas de primera generación aparecieron las de segunda generación como la flumequina, y las más recientes denominadas de tercera generación como son las fluoroquinolonas (Figura 1) pefloxacina, enoxacina, norfloxacina, ciprofloxacina, amifloxacina, ofloxacina, enrofloxacina, lomefloxacina, danofloxacina y otras, algunas de ellas aún bajo estudio, que se caracterizan por tener en la posición 6 del anillo 4-quinolónico, un átomo de fluor que aparentemente es responsable de un incremento en la actividad antimicrobiana de estas sustancias (NEWSON, 1984; VANCUTSEM et al., 1990), y un grupo 7-piperazino que es el responsable de la actividad antipseudomona (SMITH, 1984a,b; SCHENTANG y DOMAGALA, 1985). El sustituyente (R_1) ciclopropil, en la molécula de ciprofloxacina y enrofloxacina, representa el mismo impedimento estérico que el grupo etilo de otras fluoroquinolonas como la enoxacina y norfloxacina. Este sustituyente implica también una mayor actividad antibacteriana (CHIN y NEU, 1984).

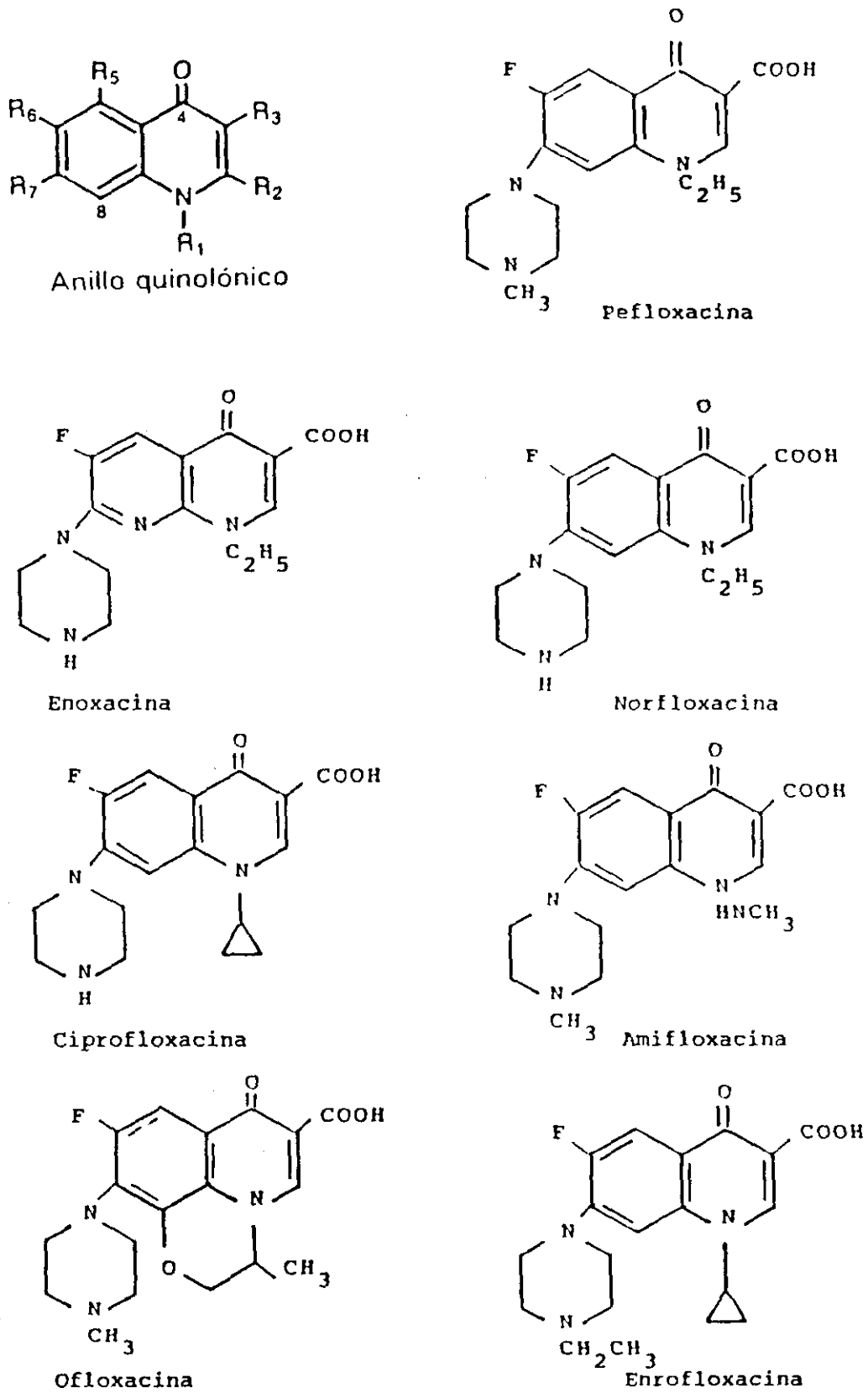


FIGURA 1. ESTRUCTURAS REPRESENTATIVAS DE AGENTES ANTIBACTERIANOS 4-QUINOLONAS DE ULTIMA GENERACION.

1.2. Estructura y propiedades físico-químicas

Podemos decir que las modificaciones estructurales que se han producido en la evolución de las 4-quinolonas, han conducido a un incremento de la actividad antimicrobiana, junto a alteraciones marcadas en sus propiedades farmacocinéticas.

El punto inicial de todo el desarrollo de los agentes 4-quinolonas puede ser descrito como la estructura mínima mostrada en la Figura 2, que incluye en la estructura del anillo un nitrógeno en posición 1, un grupo ácido carboxílico en posición 3 y un grupo oxo en posición 4.

Las quinolonas poseen un grupo ácido (ácido carboxílico) y un grupo básico (amina terciaria), hecho que les concede propiedades anfóteras. Su solubilidad lipídica suele ser baja, excepto a pH entre 6 y 8. Dentro de estos valores de pH tienen una baja solubilidad en agua, siendo propensas a precipitar en condiciones de pH más ácido. Aparentemente se debe a esta última propiedad la cristaluria descrita que se produce con algunas quinolonas en animales (BALL, 1986; SCHLÜTER, 1987).

En el presente trabajo hemos elegido para su estudio las fluoroquinolonas: norfloxacin, ciprofloxacina y enrofloxacin.

La norfloxacin corresponde al 1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolina ácido carboxílico (Figura 1).

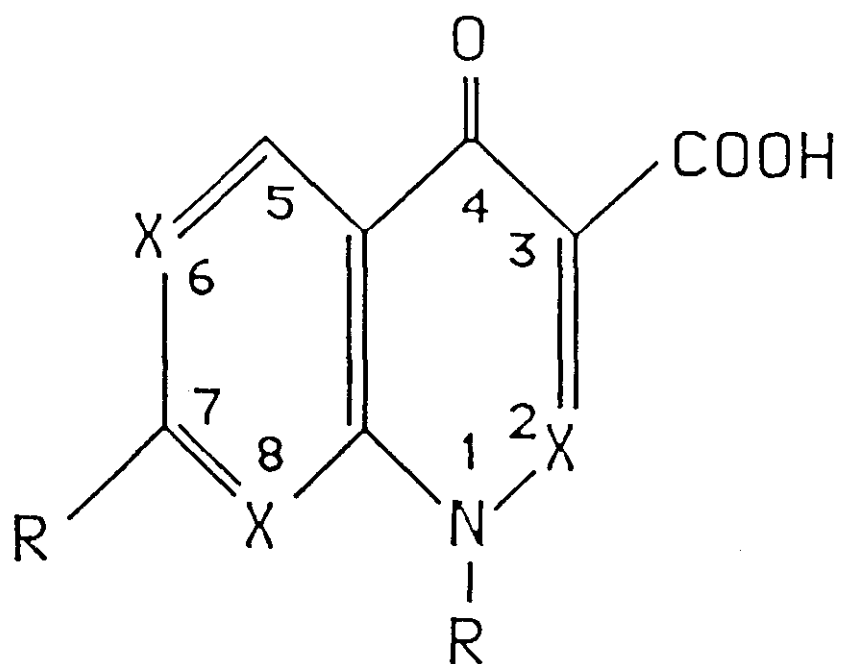


FIGURA 2. ESTRUCTURA BASICA DE LOS AGENTES ANTIBACTERIANOS
4-QUINOLONAS.

La ciprofloxacina corresponde al 1-ciclo-propil-6-fluoro-1,4-dihidro-4 oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolina ácido carboxílico (Figura 1). La ciprofloxacina, al igual que la norfloxacina, también posee caracter iónico positivo y negativo a la vez, es decir tiene una función ácida (pKa 8,8) y básica (pKa 6,0), con un punto isoeléctrico de 7,4 (LEBEL, 1988).

La enrofloxacinina corresponde al 1-ciclo-propil-7-(4-etil-piperazinil)-6-fluor-1,4-dihidro-4-oxo-3-quinolina ácido carboxílico (Figura 1). Como vemos su fórmula estructural es muy semejante a la de la ciprofloxacina y posee una actividad y espectro antimicrobiano muy similar. De hecho el primer metabolismo que sufre la enrofloxacinina es la conversión a ciprofloxacina. La enrofloxacinina, igualmente, no es soluble en agua pH 7, contiene en su molécula grupos ácidos y básicos, lo que se conoce como estructura betaínica, y de ahí que se solubilice en valores de pH tanto ácidos como básicos. (ALTREUTHER, 1987).

1.3. Mecanismo de acción

La DNA girasa, topoisomerasa II bacteriana, es una enzima esencial para la replicación del DNA bacteriano y está compuesta de dos subunidades A, productos del gen *gyrA*, y dos subunidades B, productos del gen *gyrB*. Esta enzima introduce los enlazados super-hélice negativos en el DNA por un mecanismo de rotura de ambas cadenas del DNA duplex, paso de otro segmento de DNA a través de la rotura, y reunificación de las cadenas de DNA

fracturadas.

Las primeras investigaciones que determinaron que la DNA girasa era el lugar-diana de las primeras quinolonas, así como de las últimas generaciones de quinolonas, se realizaron principalmente en **Escherichia coli** (GELLERT et al., 1977; SUGINO et al., 1977; HOOPER et al., 1986,1987; WOLFSON et al., 1987). Los mismos resultados se observaron tras la purificación de DNA girasa a partir de mutantes fármaco-resistentes y de cepas (tipo-salvaje) de **Bacillus subtilis** (SUGINO y BOTT, 1980) y **Haemophilus influenzae** (SETLOW et al., 1985). Más recientemente, por el uso de comparaciones similares de enzimas obtenidas de cepas tipo-salvaje y mutantes, se vuelve a confirmar que la acción de las quinolonas también implica la DNA girasa subunidad A en **Pseudomonas aeruginosa** (MILLER y SCURLOCK, 1983; INOUE et al., 1987; ROBILLARD y SCARPA, 1988) y **Citrobacter freundii** (AOYAMA et al., 1988). Asimismo también una aparente actividad característica de la DNA girasa ha sido identificada a partir de **Staphylococcus aureus**, tipo-salvaje (TAKAHATA y NISHINO, 1988). Esta actividad, al contrario de la actividad DNA girasa de bacterias Gram-negativas, se inhibe por compuestos quinolonas a concentraciones similares a aquellas que inhiben el crecimiento del organismo original matriz. No obstante, la prueba definitiva para una implicación específica de la DNA girasa en la acción de los compuestos quinolonas en todas estas bacterias mencionadas debe demostrarse en estudios con DNA girasa aislada de organismos mutantes seleccionados para la resistencia del fármaco.

A este respecto, en sus actividades enzimáticas y de rotura del DNA, una DNA girasa purificada reconstituida con una subunidad A que ha sido purificada a partir de una bacteria mutante *gyrA* seleccionada para un alto nivel de resistencia al ácido nalidíxico, demostró una resistencia aumentada al ácido nalidíxico y al ácido oxolínico, por lo que se identificó a la DNA girasa como un lugar-diana de estas quinolonas (GELLERT et al., 1977; SUGINO et al., 1977). Para las más nuevas quinolonas, resultados similares indican que la subunidad A girasa es el lugar-diana del fármaco (HOOPER y WOLFSON, 1988). Tanto para el ácido nalidíxico como para las más nuevas flouoroquinolonas, tales como norfloxacin, ofloxacin y ciprofloxacina, una mutación *gyrA* seleccionada para una resistencia a estos fármacos, proporcionaba a su vez una resistencia aumentada del fármaco tanto en términos de crecimiento bacteriano como en la actividad de super-enrollamiento del DNA de la DNA girasa parcialmente purificada. También es importante, el hecho de que menores concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para el crecimiento bacteriano también fueron reflejadas en forma sustancial, aunque no siempre proporcional, con disminuciones en las concentraciones del fármaco que reducen a la mitad la intensidad de la cadena del DNA, el cual era más altamente super-enrollado por la DNA girasa (CI_{50}). Este hallazgo indica que un incremento en la potencia antimicrobiana se origina al menos en parte a partir de un incremento en la potencia de inhibición de la DNA girasa.

Parte de este incremento en la potencia también se refleja en la actividad frente a topoisomerasas tipo II eucarióticas

(HUSSY et al., 1986), pero esta inhibición sucede sustancialmente a concentraciones más altas del fármaco, las cuales no se alcanzan en el hombre y en los animales excepto quizás en la orina (HOOPER y WOLFSON, 1985).

A través de la síntesis de quinolonas radiomarcadas con alta actividad específica, ha sido posible estudiar las interacciones de las quinolonas directamente a nivel molecular. Los estudios de SHEN y PERNET (1985) demostraron la unión de la norfloxacin a al DNA con un "plateau" a una concentración correspondiente a la constante de inhibición (K_i) para la actividad de super-enrollamiento del DNA de la DNA girasa purificada (SHEN y PERNET, 1985; SHEN et al., <1989a,b). La unión al DNA super-enrollado y desnaturalizado fué mayor, un hecho que sugiere una más alta afinidad a la cadena simple del DNA. En ensayos de competición en las que otras quinolonas no-radiomarcadas son utilizadas, el logaritmo de la constante de unión fué groseramente proporcional al logaritmo de la K_i para la inhibición del super-enrollamiento del DNA, girasa-mediado.

Por el contrario, en estudios preliminares, LE GOFFIC (1985) indicó que ocurren alteraciones en la respuesta de resonancia magnética nuclear ^{19}F de la pefloxacin a en presencia de cantidades relativamente bajas de DNA girasa pero estas no ocurren en presencia de únicamente DNA (LE GOFFIC, 1985). Por lo tanto, todavía para clarificar los detalles de las interacciones de las quinolonas a nivel del DNA y DNA girasa se requieren estudios adicionales.

Por otra parte, se conocen también otros importantes resultados complejos sobre la acción de las quinolonas que no han sido del todo por el momento bien comprendidos. Ensayos de inhibición del super-enrollamiento del DNA por quinolonas, ambos en sistemas usando DNA girasa purificada y en aquellos usando células intactas, han demostrado que las concentraciones del fármaco que inhiben el super-enrollamiento son sustancialmente superiores a las CMI para el crecimiento bacteriano (GELLERT et al., 1977; YAMAGISHI et al., 1981; MILLER y SCURLOCK, 1983; ZWEERINK y EDISON, 1986).

Por el contrario, en un primer estudio por SNYDER y DRLICA (1979), el tratamiento de bacterias intactas con ácido oxolínico seguido por lisis con detergentes iónicos, produce una rotura del DNA, girasa-dependiente, en concentraciones próximas a aquellas que inhiben el crecimiento bacteriano, resultado que sugiere una interacción del fármaco con la DNA girasa y con el DNA, sin alteración detectable en el super-enrollamiento del DNA. Además, KREUZER y COZZARELLI (1979) encontraron que la rotura del fago T7 se vé poco afectada por la inactivación térmica de una subunidad A girasa termosensible, hecho que podría indicar que para el crecimiento T7 apenas se prevee un requerimiento concreto para la función girasa bacteriana.

También se baraja la hipótesis de que el ácido nalidíxico y probablemente otras quinolonas análogas actúan en la bacteria intacta principalmente en la formación de complejos DNA-enzima-fármaco que funcionan como "venenos" más que como inhibidores

simples del super-enrollamiento del DNA, o de otras actividades enzimáticas. Sin embargo, es posible que sean críticos ciertos niveles bajos de inhibición del super-enrollamiento del DNA. Recientemente, usando DNA girasa homogénea y realizando valoraciones del efecto inhibitorio del fármaco analizadas por densitometría de gel, se demostraron niveles bajos de inhibición del super-enrollamiento del DNA a concentraciones de quinolonas próximas a aquellas que inhiben el crecimiento bacteriano. Los valores de las CI_{50} determinados fueron similares a aquellos determinados visualmente para la DNA girasa parcialmente purificada de *E. coli* KL16, cepa usada para determinar la CMI de referencia (HOOPER y WOLFSON, 1988). Estos valores inhibitorios son algo más bajos que el valor de la K_i y que los valores inhibitorios previamente descritos (GELLERT et al., 1977; SUGINO et al., 1977; SHEN y PERNET, 1985), diferencias que pueden haberse producido por las diferentes condiciones de ensayo o métodos para determinar el punto final inhibitorio. En resumen, todavía no está del todo clarificada la importancia de la inhibición del super-enrollamiento y de la formación de "venenos", complejos DNA-enzima-fármaco, para la acción de las quinolonas sobre las bacterias intactas.

Las quinolonas son agentes bactericidas y son inhibidores de la síntesis del DNA (GOSS et al., 1965; CRUMPLIN y SMITH, 1975; CRUMPLIN et al., 1984). Compuestos como la rifampicina y el cloranfenicol eliminan o disminuyen la actividad bactericida sin afectar la inhibición rápida de la síntesis del DNA por quinolonas (GOSS et al., 1965; DIETZ et al., 1966). Por lo tanto,

parece que otros sucesos distintos del de la inhibición de la síntesis del DNA (probablemente el requerimiento de un nuevo RNA y síntesis de proteínas) puedan ser necesarios para la muerte de la bacteria. Los factores específicos, no obstante, se desconocen.

Por el momento, solamente, tenemos un conocimiento parcial del modo de acción de las quinolonas. La potencia antimicrobiana aumentada de las más nuevas fluoroquinolonas está asociada con una actividad incrementada frente a la DNA girasa, implicando en particular la subunidad A. Algunas de estas más nuevas fluoroquinolonas también parecen poseer una potencia aumentada frente a la DNA girasa; posiblemente estos incrementos son debidos a un aumento en la permeabilidad o paso del fármaco a través de la membrana bacteriana. Las investigaciones en el presente se sitúan al objeto de obtener un mayor conocimiento en : 1) los detalles de las interacciones moleculares de las quinolonas con la DNA girasa y DNA; 2) la relación entre la inhibición de las actividades enzimáticas de la DNA girasa y la formación del "veneno" putativo, complejo DNA-enzima-fármaco y 3) aquellos sucesos específicos mediados por los compuestos quinolona que conducen a la muerte bacteriana.

1.4. Actividad antimicrobiana

La actividad clínica de cualquier fármaco antibacteriano depende de diversos factores entre los que se encuentran: 1) su actividad antimicrobiana, 2) su mecanismo de acción y 3) su

concentración alcanzada en el plasma y en los diferentes órganos y tejidos.

Por su mecanismo de acción no es sorprendente que las quinolonas sean bactericidas, de ahí que su concentración mínima bactericida suele ser igual o, no más que dos, diluciones mayor que la concentración mínima inhibitoria (CMI).

La concentración bactericida mínima (CBM) se define como la más baja concentración del antibiótico a la cual no se produce crecimiento bacteriano alguno. En comparación con la concentración mínima inhibitoria (CMI), la CBM sirve para medir la potencia de un quimioterápico. Cuanto más se acercan los dos valores tanto mayor es el efecto bactericida.

La concentración bactericida mínima (CBM) de la norfloxacin es sólo ligeramente más alta a la CMI. La escasa diferencia existente entre la CMI y la CBM en la norfloxacin indica que el desarrollo de resistencias frente a este fármaco puede ser menos frecuente que en el ácido nalidíxico (NORRBY y JONSSON, 1983).

De igual forma, la ciprofloxacina se comporta como un agente bactericida a concentraciones próximas a la CMI (REEVES et al., 1984). En la mayoría de los estudios realizados con anaerobios Gram-positivos y Gram-negativos, la CBM se encuentra dentro de dos diluciones de la CMI (AUCKENTHALER et al., 1986; AZNAR et al., 1985; LAGAST et al., 1985; PARRY et al., 1985; PICCOLOMINI y RABAGMAN, 1986; RUBENSTEIN et al., 1986; WEBER et al., 1985;

WISE et al., 1983). Frente a **Pseudomonas aeruginosa** y **Staphylococcus spp** se han demostrado mayores razones de CBM/CMI (con valores de 2 a 4) (AUCKENTHALER et al., 1986; LAGAST et al., 1985; PICCOLOMINI y RAVAGNAN, 1986).

Los estudios de CHIN y NEU (1984) mostraron valores de la CBM para la ciprofloxacina dentro de cuatro diluciones de la CMI para el 75 % de las cepas aisladas, incluyendo entre estas, gérmenes aerobios y anaerobios. Sin embargo en ningún caso la CBM tuvo valores superiores a 1,5 $\mu\text{g/ml}$.

En el caso de la enrofloxacin, ha podido demostrarse en ensayos con más de 338 cepas de diferentes microorganismos, que en el 10 % de los casos los valores de la CBM y CMI son idénticos, en un 40 % de las cepas existe un grado de diferencia, y en otro 30 % de las cepas está dentro de dos grados de diferencia (SCHEER 1987a). El grado de diferencia se calcula aplicando la fórmula : $(CBM - CMI)/CMI$.

El empleo de un fármaco antimicrobiano suele dar lugar a la aparición de resistencias bacterianas. En el caso de las quinolonas se ha visto que cepas individuales de microorganismos susceptibles pueden desarrollar resistencias a las mismas, al menos, por dos mecanismos diferentes: a) modificaciones para reducir la afinidad de las subunidades de la girasa bacteriana para el fármaco ó b) alteraciones en la pared celular más externa o en la membrana citoplásmica lo que podría originar una reducción en la permeabilidad celular. No obstante, el fármaco

continuaría siendo eficaz, aunque se necesitarían mayores concentraciones, lo que podría desaconsejar su empleo. Las resistencias que se producen por mutación cromosómica para las fluoroquinolonas, tienen muy baja frecuencia. También conviene indicar que se han encontrado resistencias cruzadas entre las fluoroquinolonas.

Las fluoroquinolonas objeto de este trabajo, a saber, norfloxacin, ciprofloxacina y enrofloxacin, presentan todas ellas una buena absorción y distribución, alcanzando buenas concentraciones plasmáticas y tisulares, hecho que las convierte en fármacos con buenas perspectivas terapéuticas para su uso clínico.

1.4.1. Actividad antimicrobiana in vitro

La actividad antimicrobiana **in vitro** se basa en la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), que se define como la más baja concentración de fármaco a la cual el crecimiento bacteriano obtenido se reduce a 1 % ó menos, cuando se compara éste con el control, o lo que es lo mismo, no se detecta crecimiento bacteriano visible. La CMI se obtiene inoculando de 10^4 a 10^6 unidades formadoras de colonias (ufc) en agar o caldo de cultivo con distintas diluciones del fármaco antimicrobiano. La diferencia en las CMI para el 90 % de las cepas investigadas (CMI_{90}) en mayor o igual a dos diluciones son consideradas como indicativo de las diferencias en susceptibilidad.

Las quinolonas de primera generación son principalmente activas frente a bacterias Gram-negativas, en particular sobre enterobacterias (**Escherichia coli**, especies de **Salmonella**, **Shigella**, **Pasteurella**, entre otras), teniendo aplicación terapéutica sobre infecciones del tracto génito-urinario por cuanto alcanzan altas concentraciones a este nivel. Las fluoroquinolonas presentan un espectro de acción mucho más amplio, siendo fármacos activos frente a gérmenes Gram-negativos, algunos Gram-positivos y sobre algunas bacterias intracelulares.

Actividad in vitro de la norfloxacin

Bacterias Gram-negativas:

La norfloxacin inhibe el 90 % de las cepas aisladas de **Escherichia coli**, **Klebsiella pneumoniae**, **Proteus mirabilis**, **Proteus spp** indol positivo, **Enterobacter spp**, **Shigella sonnei** y **Salmonella typhi** a una concentración menor o igual a 0,5 µg/ml. Cepas de **Serratia marcescens** y **Providencia stuartii** fueron algo más resistentes necesitando concentraciones de 4 µg/ml. La concentración dada se refiere a la CMI₉₀. Asimismo, es activa frente a **P. aeruginosa** con una CMI₉₀ de 2 µg/ml (CLARKE et al., 1985; NORBY y JONSSON, 1983). Para estos estudios se emplearon de 10⁴ a 10⁵ ufc.

La mayoría de los gérmenes **Actinobacter spp** requieren para su inhibición concentraciones de 1 a 4 µg/ml, pero una de cada cuatro cepas estudiadas tiene una CMI >16 µg/ml (NEWSSON, 1984).

SHUNGU et al. (1983) probaron la norfloxacinina contra 180 aislados de patógenos gastrointestinales y encontraron una buena actividad contra **Salmonella spp** (CMI₅₀ 0,016 µg/ml), **Campylobacter** (CMI₅₀ 0,25 µg/ml), **Vibrio cholerae** (CMI₅₀ 0,008 µg/ml), **V. parahaemoliticus** (CMI₅₀ 0,06 µg/ml) y **Yersinia enterocolitica** (CMI₅₀ 0,016 µg/ml).

El microorganismo **Haemophilus influenzae** demostró una marcada sensibilidad (CMI menor o igual a 0,06 µg/ml) (CLARKE et al., 1985) al igual que frente a **Neisseria gonorrhoeae** y **meningitidis** (HOLMES et al., 1985; NEWSON, 1984).

Bacterias Gram-positivas:

La norfloxacinina es activa frente a algunos gérmenes Gram-positivos entre los que se encuentran estreptococos, estafilococos y enterococos.

NEU y LABTHAVIKUL (1982) encontraron una CMI₅₀ de 1,6 µg/ml para los grupos A y B de **Streptococcus** y de 3,1 µg/ml para **Pneumococcus**. Asimismo, también ensayaron sobre **Bacteroides fragilis** encontrando que existe una relativa resistencia con una CMI₅₀ de 6,3 µg/ml y una CMI₉₀ de 25 µg/ml. Por lo tanto posee ligera actividad frente a cocos anaerobios, **Clostridium** y **Bacteroides** (NEER, 1986).

Gérmenes intracelulares:

En este grupo se agrupan gérmenes que pueden encontrarse intracelularmente cuando han infectado a un hospedador. No

tienen, pues, por que ser intracelulares obligatoriamente.

MEIER-EWART et al. (1983) demostraron que para inhibir el crecimiento de **Chlamydia trachomatis**, se necesitaban concentraciones de hasta 20 $\mu\text{g/ml}$, hecho que les confiere una cierta resistencia.

Las fluoroquinolonas tienen actividad contra algunos patógenos intracelulares como **Brucella spp**, **Legionella spp**, **Chlamydia trachomatis**, **Mycoplasma pneumoniae** y **Mycobacterium tuberculosis** (NEU, 1987).

GREENWOOD (1983) describió una CMI de entre 0,06 a 0,5 $\mu\text{g/ml}$ en 19 cepas de **Legionella spp**, frente a la norfloxacin.

La norfloxacin tiene una CMI para el **M. tuberculosis** de unos 4 $\mu\text{g/ml}$. Es asimismo un fármaco activo frente a **M. xenopi** y **M. fortuitum**, siendo más resistentes **M. avian**, **M. kansasii** y **M. chelonae** (LEYSEN et al., 1989).

Actividad antifúngica:

SOBIESKY y BREWER (1976) apreciaron que altas concentraciones de ácido nalidíxico en orina, inhibían el microorganismo **Candida albicans**. Por su parte WALSH et al. (1983) observaron que la norfloxacin aumentaba la actividad de varios antifúngicos contra las levaduras. La actividad antifúngica no es aplicable en términos de su actividad frente a la DNA girasa, puesto que los hongos y levaduras son organismos eucariotas. Sin

embargo, podría explicarse por la inhibición de la actividad del RNA y de la síntesis de proteínas, fenómeno observado por CRUMPLIN y SMITH (1975) con altas concentraciones de ácido nalidíxico.

Actividad in vitro de la ciprofloxacina

Bacterias Gram-negativas:

La CMI₉₀ de la ciprofloxacina frente a **Enterobacteriaceae** es menor o igual a 1 µg/ml, excepto para algunas especies de **Providencia**. Se puede decir que en general es más potente que la norfloxacina, con excepción de frente a especies de **Salmonella**, **Shigella** y **Yersinia enterocolitica**, ante las que tiene una actividad similar.

La mayoría de las cepas de especies de **Pseudomonas** son sensibles **in vitro** a la ciprofloxacina, la cual tiende a ser más potente que la norfloxacina. APPELBAUM et al. (1986) demostraron que la ciprofloxacina es más activa frente a **P. aeruginosa**, **P. fluorescens** y **P. stutzeri** (con una CMI₉₀ de 0,25 a 9,5 µg/ml) que frente a **P. maltophilia** y **P. cepacia** (con una CIM₉₀ de 1 - 4 µg/ml). Sin embargo, CORNAGLIA et al. (1987) manifestaron haber encontrado una actividad similar de la ciprofloxacina frente a **P. aeruginosa**, **P. maltophilia**, **P. cepacia**, **P. fluorescens** y **P. putrefaciens**.

El microorganismo **Aeromona hydrophila** es altamente sensible a la ciprofloxacina, con una CMI₉₀ de 0,008 a 0,097 µg/ml (FASS,

1983; FELMINGHAM et al., 1985; GOOSENS et al., 1985; REINHARDT y GEORGE, 1985).

Las especies de **Neisseria** incluyendo **N. meningitidis** y **N. gonorrhoeae** penicilina-sensibles y penicilina-resistentes, tanto las productoras de penicilinasa como las mediadas cromosómicamente, son altamente susceptibles a la ciprofloxacina con una CMI menor o igual a 0,03 $\mu\text{g/ml}$.

Asimismo, se ha visto que la ciprofloxacina presenta una actividad **in vitro** frente a 34 especies de **Moraxella** (CMI₉₀ 0,5 $\mu\text{g/ml}$) mayor que la de la norfloxacina (CMI₉₀ 2 $\mu\text{g/ml}$) (APPELBAUM et al., 1986).

Frente a **Branhamella catarrhalis**, es también más activa (CMI₉₀ 0,03 $\mu\text{g/ml}$) que la norfloxacina u otras quinolonas como la pefloxacina, enoxacina, ofloxacina y ácido nalidíxico (CMI₉₀ entre 0,12 y 8 $\mu\text{g/ml}$) (CORNAGLIA et al., 1987; KING y PHILLIPS, 1986).

Todas las más nuevas fluoroquinolonas son potentes inhibidores **in vitro** de especies de **Haemophilus**, siendo concretamente la ciprofloxacina activa **in vitro** frente a las cepas β -lactamasa positivas y negativas del **Haemophilus influenzae** (CHAU et al., 1986; WEBER et al., 1985). Frente a 100 cepas de **Haemophilus ducreyi**, la ciprofloxacina resulta ser el inhibidor más potente **in vitro**, con una CMI₉₀ de 0,001 $\mu\text{g/ml}$, de entre 10 fármacos probados, incluyendo entre ellos ceftriaxon,

eritromicina y roxosacina (TAYLOR et al., 1985). Un estudio sobre 23 cepas de **Haemophilus** multirresistentes β -lactamasa positivas, reveló que la ciprofloxacina era de nuevo el inhibidor más potente **in vitro**, con una CMI₉₀ de 0,016 μ g/ml, de entre otros 13 fármacos ensayados, siendo al menos tan potente como la ofloxacina y la eritromicina (CMI₉₀ 0,03 μ g/ml) (SAMSON LE PORS et al., 1986).

Los valores de la CMI₉₀ de la ciprofloxacina frente a **Campylobacter jejuni** varían entre 0,12 y 0,62 μ g/ml, con un rango de CMI de menor o igual de 0,008 - 2 μ g/ml (AUCKENTHALER et al., 1986; CHAU et al., 1986; FELMINGHAM et al., 1985; FLIEGELMAN et al., 1985; GOOSENS et al., 1985; TURGEON et al., 1987; VAN DER AUWERA y SCORNEAUX 1985; VANHOOF et al., 1986).

Especies de **Vibrio**, incluyendo **V. parahaemoliticus** y **V. cholerae**, de las que se investigaron de 10 a 20 cepas por estudio, son sensibles a la ciprofloxacina y a otras fluoroquinolonas tales como ofloxacina, pefloxacina y amifloxacina (CHAU et al., 1986; FELMINGHAM et al., 1985; VANHOOF et al., 1986).

El microorganismo **Gardnerella vaginalis** debe ser considerado moderadamente sensible **in vitro** ante la ciprofloxacina, dado que los valores de la CMI₉₀ encontrados han sido de 1 - 8 μ g/ml (FELMINGHAM et al., 1985; HART et al., 1984; KING y PHILLIPS, 1986; LIEBOWITZ et al., 1986).

Bacterias Gram-positivas:

CORNAGLIA et al. (1987) demostraron una actividad **in vitro** de la ciprofloxacina similar frente a todas las especies de **Staphylococcus**, incluyendo **S. aureus**, **S. simulans**, **S. capitis**, **S. saprophiticus**, **S. epidermis**, **S. hominis** y **S. haemoliticus**, con CMI₉₀ de 0,5 a 1 µg/ml. La CMI₉₀ de la ciprofloxacina frente al **S. aureus** es similar tanto para las cepas sensibles como para las resistentes a la penicilina (AUCKENTHALER et al., 1986), meticilina, oxaciclina (AUCKENTHALER et al., 1986; BARRY et al., 1984; CHAU et al., 1986; CHIN y NEU, 1984; FLOYD-REISING et al., 1987; LEFROCK et al., 1986; STRATTON et al., 1987; VERBIST, 1986; WEBER et al., 1985) y gentamicina (CHAU et al., 1986).

Streptococcus spp, incluyendo **S. faecalis** son menos susceptibles. El **S. pneumoniae** tiene una CMI₉₀ de unos 2 µg/ml, mientras que el **S. pyogenes** la tiene del orden de 4 µg/ml (LEBEL, 1988).

El microorganismo **Lysteria monocitogenes** es sensible **in vitro** a la ciprofloxacina con una CMI₉₀ de 0,4 - 1 µg/ml (AUCKENTHALER et al., 1986; CHIN y NEU, 1984; CORNAGLIA et al., 1987).

El germen **Nocardia asteroides** es muy poco sensible, por no decir resistente, a la ciprofloxacina, con unos valores más frecuentes para la CMI₉₀ de 8 - 12 µg/ml, siendo el rango de 0,12 a 32 µg/ml (AUCKENTHALER et al., 1986; FELMINGHAM et al., 1985).

De entre las especies **Bacteroides**, se ha demostrado que son sensibles **in vitro** a la ciprofloxacina, **B. oralis**, con una CMI₉₀

de 0,5 $\mu\text{g/ml}$ en 17 cepas (KLIETMANN et al., 1987) y **B. ureolyticus**, con una CMI_{90} de 0,06 $\mu\text{g/ml}$ frente a 10 cepas (KING y PHILLIPS, 1986). **B. melaninogenicus** puede ser considerablemente menos sensible, con una CMI_{90} de 1 - 4 $\mu\text{g/ml}$, y en la mayoría de los estudios los valores de la CMI_{90} de la ciprofloxacina para **B. fragilis** fueron superiores o iguales a 8 $\mu\text{g/ml}$ (EDLUND y NORD, 1986; FELMINGHAM et al., 1985; KING y PHILLIPS, 1986; PRABHALA et al., 1984; SUTTER et al., 1985).

Clostridium difficile y otras especies de **Clostridium** son generalmente resistentes a la ciprofloxacina con CMI mayores o iguales a 8 $\mu\text{g/ml}$ (DELMEE y AVESANI, 1986), aunque el **Clostridium perfringes** estudiado por HÖFFLER (1986) en 35 cepas y por FELMINGHAM et al. (1985) en 50 cepas fué marcadamente sensible, con valores para la CMI in vitro de 1 y 0,5 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente.

Fusobacterium fusiforme ha resultado ser moderadamente sensible **in vitro** a la ciprofloxacina. Cepas de **F. nuclatum** y **F. necrophorum** también son moderadamente sensibles con una CMI_{90} de 4 $\mu\text{g/ml}$ (KING y PHILLIPS, 1986).

Asimismo han manifestado sensibilidad **in vitro** a la ciprofloxacina otras dos especies de anaerobios, a saber: **Propionibacterium**, con una CMI_{90} de 0,5 $\mu\text{g/ml}$ en 36 cepas (HÖFFLER, 1986) y **Corynebacterium**, con una CMI_{90} de 1 $\mu\text{g/ml}$ en 113 cepas estudiadas (FERNANDEZ-ROBLAS et al., 1987).

Gérmenes intracelulares:

Frente a 37 cepas clínicas de especies de **Legionella**, la ciprofloxacina tiene una actividad **in vitro** con un rango de CMI de menor o igual a 0,002 - 0,6 $\mu\text{g/ml}$, similar al de la ofloxacina, mostrándose algo más activa que la enoxacina, norfloxacina o eritromicina y considerablemente menos activa que la rifampicina (SAITO et al., 1986).

La ciprofloxacina inhibe el crecimiento de **Brucella melitensis** a concentraciones inferiores o iguales a 1 $\mu\text{g/ml}$ (CMI₉₀ 0,5 - 1 $\mu\text{g/ml}$) (BOSCH et al., 1986; GOBERNADO et al., 1984). La actividad de la ciprofloxacina fué menor que la de la doxiciclina (CMI₉₀ 0,12 $\mu\text{g/ml}$) y equivalente a la de la tetraciclina, ceftriaxona y estreptomina (BOSCH et al., 1986).

Los estudios con especies de **Mycobacterium** generalmente han sido realizados en medio de cultivo Lowestein-Jensen, usando inoculos de 10^2 - 10^5 ufc. Frente a **M. tuberculosis**, la ciprofloxacina presenta una CMI₉₀ de 0,5 - 1,56 $\mu\text{g/ml}$ (COLLINS y UTTLEY, 1985; FENLON y CINAMON, 1986; GAY et al., 1984). Ante **M. fortuitum**, la CMI₉₀ oscila entre 0,25 y 1,56 $\mu\text{g/ml}$ (CASAL et al., 1987; COLLINS y UTTLEY, 1985; GAY et al., 1984; SWENSON et al., 1985). Frente a otros **Mycobacterium** se han publicado otros valores de CMI₉₀, siendo por lo general menos sensibles o resistentes; entre ellos destacan: **M. intracelullar** (sensible, 2 $\mu\text{g/ml}$) (FENLON y CINAMON, 1986), **M. chelonae** (8 - 12,5 $\mu\text{g/ml}$), **M. kansasii** (4 - 6,25 $\mu\text{g/ml}$), **M. xenopi** (sensible, 1,46 $\mu\text{g/ml}$) (COLLINS y UTTLEY, 1985; GAY et al., 1984; SWENSON et al., 1985)

y para otras especies de **Mycobacterium** entre 1,2 - 3,2 $\mu\text{g/ml}$ (DAVIES et al., 1987; MARINIS y LEGAKIS, 1985).

La actividad de la ciprofloxacina frente a cepas, aisladas de casos clínicos, de **Chlamydia trachomatis** fué estudiada usando un inóculo de 10^2 a 10^3 unidades formadoras de inclusión en células de McCoy tratadas con cicloheximida. La CMI de la ciprofloxacina frente a todas las especies estudiadas osciló entre 0,5 - 2 $\mu\text{g/ml}$ (AZNAR et al., 1985; RIDGWAY et al., 1984).

RIDGWAY et al. (1984) establecen valores de CMI para la ciprofloxacina de 0,5 - 2 $\mu\text{g/ml}$ para 10 cepas de **Ureaplasma urealyticum**, y de 0,25 - 0,5 $\mu\text{g/ml}$ para 10 cepas de **Mycoplasma hominis**. Sin embargo, ESCALANTE et al. (1985) publicaron valores para la CMI_{90} de 32 $\mu\text{g/ml}$ y 4 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente, frente a estas dos especies.

Actividad in vitro de la enrofloxacin

Bacterias Gram-negativas:

La enrofloxacin es muy activa **in vitro** frente a **Escherichia coli**, **Salmonella spp**, **Klebsiella spp**, **Yersinia spp**, **Haemophilus spp**, **Pasteurella spp** y **Moraxella**, con valores para la CMI muy por debajo de 0,5 $\mu\text{g/ml}$. Son asimismo sensibles **Serratia marcescens**, **Proteus spp**, **Citrobacter spp**, **Campylobacter spp**, **Bordetella bronchiseptica**, **Vibrio parahaemolyticus**, con valores para la CMI de 0,125 - 0,5 $\mu\text{g/ml}$. También afecta, aunque no es muy sensible, a **Treponema hyodysenteria**, con una CMI de 4 $\mu\text{g/ml}$.

Como casi todas las flouoroquinolonas, es activa frente a **Pseudomonas**, concretamente frente a **Pseudomonas aeruginosa** posee una CMI de 0,25 - 2 $\mu\text{g/ml}$ (SCHEER, 1987a).

Bacterias Gram-positivas:

La enrofloxacina es muy activa frente a **Actinobacillus spp** con una CMI de 0,01 - 0,3 $\mu\text{g/ml}$. Se consideran sensibles frente a enrofloxacina: **Bacillus cereus**, **Staphylococcus spp**, **Erysipelothrix spp.**, con valores para la CMI inferiores a 1 $\mu\text{g/ml}$. Algo menos sensibles son los microorganismos **Streptococcus spp** (CMI 0,06 - 4 $\mu\text{g/ml}$), **Corynebacterium pyogenes** (CMI 0,006 - 4 $\mu\text{g/ml}$), **Lysteria monocitogenes** (CMI 1 - 2 $\mu\text{g/ml}$), **Clostridium perfringens** (CMI 0,2 - 2 $\mu\text{g/ml}$). Frente a **Bacteroides spp.**, se han observado enormes variaciones en la CMI, en un rango entre 0,8 - 12,5 $\mu\text{g/ml}$ (SCHEER, 1987a).

Gérmenes intracelulares:

Son sensibles a la enrofloxacina **Mycoplasma spp.**, (CMI 0,01 - 1 $\mu\text{g/ml}$) y **Brucella canis** (CMI 0,1 - 0,25 $\mu\text{g/ml}$) (SCHEER 1987a).

1.4.2. Actividad frente a bacterias resistentes

Enterobacterias resistentes a cefotaxima y/o ceftazidina resultaron ser sensibles a la ciprofloxacina, siendo todas las cepas inhibidas con concentraciones de 2 $\mu\text{g/ml}$ ó inferiores (KELLEY et al., 1986; SIMBERKOFF y RAHAL, 1986). Pese a esto, se ha divulgado la existencia de una resistencia cruzada entre

ciprofloxacina y cefalosporinas. La reducción en la actividad inhibitoria de la ciprofloxacina frente a enterobacterias resistentes a la ampicilina (ROY et al., 1983), amikacina (SIMBERKOFF y RAHAL, 1986) y norfloxacina (KELLEY et al., 1986) es pequeña, comportandose la ciprofloxacina como un potente inhibidor de estos microorganismos. La ciprofloxacina conserva una actividad inhibitoria moderada (CMI_{90} 0,5 - 2 $\mu\text{g/ml}$) frente a cepas de **Pseudomonas aeruginosa**, resistentes a aminoglucósidos (KELLEY et al., 1986; PICCOLOMINI y RAVAGNAN, 1986; ROY et al., 1983; WEINSTEIN et al., 1987), cefotaxima y/ó ceftazidina (KELLEY et al., 1986) así como frente a cepas multi-resistentes a penicilinas, aminoglucósidos y cefotaxima (VENEZIO et al., 1986).

Para bacterias Gram-positivas, la actividad inhibitoria de la ciprofloxacina se ha estudiado frente a cepas resistentes de **Staphylococcus aureus**, **S. epidermidis**, **S. pneumoniae** y **S. faecalis**. Existen numerosos estudios sobre la actividad de éste fármaco frente a cepas de **S. aureus** resistentes a meticilina, observándose que la CMI de la ciprofloxacina oscilaba entre 0,064 y 1 $\mu\text{g/ml}$ (CMI_{90} 0,25 - 0,5 $\mu\text{g/ml}$) (ALDRIDGE et al., 1985; MOORHOUSE et al., 1985; SMITH, 1986b; SMITH y ENG, 1985). También se ha comprobado que cepas de **S. epidermidis** resistentes a meticilina (SIMBERKOFF y RAHAL, 1986; VENEZIO et al., 1986) y cepas de **S. aureus** resistentes a la oxacilina (KELLEY et al., 1986; WEINSTEIN et al., 1987), así como **Staphylococcus**, coagulasa- negativos, (WEINSTEIN et al., 1987) son sensibles a la ciprofloxacina con valores para la CMI_{90} entre 0,25 y 1 $\mu\text{g/ml}$.

La ciprofloxacina inhibe todas las cepas de **S. pneumoniae** resistentes a penicilina (SIMBERKOFF y RAHAL, 1986; GOMBERRT y AULICINO, 1984) a concentraciones de 0,125 a 2 $\mu\text{g/ml}$. Cepas de **S. faecalis** resistentes a cefotaxima y/ó ceftazidina son asimismo sensibles a la ciprofloxacina (KELLEY et al., 1986).

Cepas de **E. coli**, resistentes a la ampicilina, cloranfenicol o tetraciclina, resultaron ser sensibles a la enrofloxacina con CMI oscilando entre 0,01 - 0,5 $\mu\text{g/ml}$, al igual que cepas de **Salmonella spp** resistentes a ampicilina, cloranfenicol ó gentamicina, lo fueron también a las mismas CMI, mientras que cepas de **Pasteurella multocida** resistentes a ampicilina, cloranfenicol ó tetraciclina, mostraban una CMI para la enrofloxacina de 0,003 a 0,06 $\mu\text{g/ml}$. En lo referente a gérmenes Gram-positivos, cepas de **Staphylococcus aureus** resistentes a ampicilina, cloranfenicol, tetraciclina, penicilina G, ó oxacilina fueron sensibles a la enrofloxacina con CMI de 0,06 y 1 $\mu\text{g/ml}$ (SCHEER, 1987a).

1.5. Desarrollo de resistencias

Aumentos en la resistencia bacteriana frente a un fármaco antimicrobiano en la mayoría de microorganismos pueden seleccionarse por exposiciones de un solo paso a dicho fármaco. En contraste con estas técnicas de cultivo directo, las técnicas de paso seriado a través de agar con concentraciones crecientes del fármaco antibacteriano selecciona bacterias con mayores niveles de resistencia, como resultado de la acumulación de

varias mutaciones (ELIOPOULOS et al., 1984; HOOPER et al., 1986,1987; TENNEY et al., 1983). Los ligeros aumentos en la resistencia resultantes de la exposición a técnicas de un solo paso pueden tener una cierta significación clínica para cepas que presenten una susceptibilidad moderada. La incidencia de mutantes resistentes que aparecen durante ambas técnicas es comparable entre las 4-quinolonas (AUCKENTHALER et al., 1986; CULLMANN et al., 1985).

En los mecanismos implicados en el desarrollo de resistencia bacteriana frente a las más nuevas fluoroquinolonas existen hallazgos esperanzadores, así no se conoce ningún mecanismo por el que se pueda desarrollar resistencia a partir de la degradación bacteriana de la quinolona (HOOPER et al., 1987), ni se ha detectado resistencia frente a las fluoroquinolonas mediadas por plásmidos (COURVALIN, 1990; HOOPER et al., 1987; KAYSER, 1985; SMITH 1984a,b,c, 1986a). No obstante, se ha observado resistencia por plásmidos para el ácido nalidíxico (MUNSHI et al., 1987), pero sin ser cruzada con las fluoroquinolonas. SMITH (1984a) sugiere que la destrucción de las quinolonas por plásmidos es improbable, aunque por otra parte se ha observado que las quinolonas, sí, pueden eliminar los plásmidos de las células actuando sobre la bacteria donante y la receptora (BURMAN, 1977; FRIEDMAN et al., 1984, NAKAMURA et al., 1976; WOLFSON et al., 1982). De hecho, la ciprofloxacina puede inducir a la eliminación de plásmidos de las bacterias (METHAR et al., 1987; MICHEL-BRIAND et al., 1986; WEISER y WIEDEMANN, 1987a), si bien WEISER y WIEDEMANN (1987b) observaron que se

requerían concentraciones superiores a la CMI para obtener este efecto en *E. coli*, aportando así dudas sobre la importancia clínica del hecho.

Existe resistencia cruzada entre las diferentes quinolonas, mientras que la resistencia cruzada con otro tipo de fármacos antimicrobianos existe pero en un grado mucho menor. Así, se ha observado la existencia de resistencia cruzada entre la ciprofloxacina y las ureidopenicilinas, cefalosporinas y aminoglucósidos, entre otros antimicrobianos (BARRY y JONES, 1984a; CRUMPLIN et al., 1984; GREENBERG et al., 1987b; INOUE et al., 1982; PARRY, 1985; PIDDOCK et al., 1987; PREHEIM et al., 1987; TRAUB, 1985).

La resistencia frente a las quinolonas parece producirse por mutación cromosómica a través de dos mecanismos. El primero de ellos implica mutaciones que afectan a la DNA girasa que modifica a la subunidad A (HOOPER et al., 1987; KAYSER 1985; SMITH 1984c) y el segundo se refiere a mutaciones que afectan a la permeabilidad celular, en particular los canales de poros (HOOPER et al., 1987; PIDDOCK et al., 1987; PREHEIM et al., 1987; SUERBAUM et al., 1987), mecanismo éste último que puede prevenir no solo la penetración celular de quinolonas, sino también la de otros agentes antibacterianos diferentes y, en consecuencia, generar resistencia cruzada con los mismos. No obstante, estudios realizados con algunas de las más nuevas fluoroquinolonas han mostrado que en este subgrupo, en particular, se producen con mucha menor frecuencia este tipo de mutaciones (CHIN y NEU, 1984;

INOUE et al., 1978).

INOUE et al. (1978) realizaron un estudio sobre mutantes espontaneos de *E. coli* con varios modelos de resistencia frente al ácido pipemídico, piromídico y nalidíxico, observando que la mayoría de los mutantes eran menos resistentes al ácido pipemídico que al ácido piromídico y al nalidíxico, y algunos mutantes resistentes al ácido piromídico y al nalidíxico eran hipersusceptibles al ácido pipemídico. Estudios con varios mutantes con un alto nivel de resistencia revelaron que ésta era conferida por mutaciones en los genes nal A, nal C y nal D. Las mutaciones en los genes nal A y nal D conferían resistencia a las tres quinolonas estudiadas, mientras que las existentes en el gen nal C determinaban resistencia solo frente al ácido piromídico y nalidíxico.

Varios autores han descrito experimentalmente mutantes de *E. coli* en los que se aprecia que mutaciones involucrando al gen gyr A causan un alto nivel de resistencia frente al ácido nalidíxico, con un nivel algo más bajo de resistencia cruzada frente a fluoroquinolonas (generalmente 4 a 8 veces) (BEDARD et al., 1987; CHIN y NEU 1984; CULLMANN et al., 1985; HIRAI et al., 1986a,b; HOOPER et al., 1986,1987; INOUE et al., 1978; SANDERS et al., 1984; SATO et al., 1987; SMITH, 1984c; YAMAGISHI et al., 1986). También han sido descritas mutaciones afectando al locus gyr B. Así, SMITH (1984c) describe una de ellas que produce un ligero aumento de la resistencia frente al ácido nalidíxico y a otras fluoroquinolonas.

La causa de una frecuencia de resistencia más baja frente a las fluoroquinolonas es desconocida, si bien en algunos casos puede estar relacionada con la existencia de una concentración de fármaco muy alta para el primer paso de resistencia (HIRAI et al., 1986b).

Como ya hemos indicado anteriormente, el desarrollo de resistencias frente a las quinolonas puede también observarse en el laboratorio por pases seriados de cultivos de microorganismos en presencia de concentraciones incrementadas del fármaco, pero este hecho generalmente no es responsable de la resistencia clínica frente a los fármacos antibacterianos (SMITH, 1986a). Este hecho principalmente ocurre porque el microorganismo **E. coli** es muy susceptible a las fluoroquinolonas, tal como la ciprofloxacina o enrofloxacina, y porque se emplean altas concentraciones de **E. coli**, circunstancia que no ocurre muy frecuentemente en la práctica clínica.

En otros microorganismos Gram-negativos aerobios del Género **Klebsiella**, **Serratia**, **Providencia** y **Pseudomonas**, la presencia de una resistencia de primer paso frente a la ciprofloxacina es mayor. En estos últimos Géneros, cepas resistentes seleccionadas de esta manera a menudo poseen una alta resistencia a la ciprofloxacina, que en verdad, si puede tener importancia clínica. Niveles de resistencia frente a las concentraciones séricas de quinolonas pueden aparecer clínicamente cuando se producen mutaciones cromosómicas (mutación del gyr A) en una cepa resistente (HOOPER et al., 1987).

A nivel laboratorial, los microorganismos susceptibles suelen desarrollar resistencia a las fluoroquinolonas, bien por una mutación cromosómica espontánea, tras un primer paso a través del fármaco, asociada con alteraciones en la subunidad A (mutación *gyr A*) en presencia de altas concentraciones de la fluoroquinolona, y/o bien por una resistencia mutacional causada por pasos sucesivos a concentraciones crecientes del fármaco, hecho éste último en el que la incidencia de mutantes es comparable, en general, entre todas las fluoroquinolonas (AUCKENTHALER et al., 1986; CULLMANN et al., 1985).

Con respecto al segundo mecanismo de aparición de resistencia, la reducción en la permeabilidad de la pared celular del microorganismo, HREBENDA et al. (1985) observaron que mutantes de *E. coli* resistentes al ácido nalidíxico a 37°C y susceptibles a 30°C, mostraban un descenso en la captación de ácido nalidíxico tritiado y de glicerol, y aunque no observaron alteraciones en el perfil proteico de la membrana externa, sí observaron alteraciones en la bicapa de fosfolípidos. Otros estudios con mutantes, entre otros *E. coli* resistentes a la ciprofloxacina por mutación en el gen *gyr B*, si describen una alteración en el perfil proteico de la membrana externa así como una captación disminuida de quinolonas, presentando dichos mutantes resistencia a cefalosporinas, tetraciclinas y cloranfenicol (BRYAN et al., 1989; GEORGE y LEVI, 1983; HIRAI et al., 1986a; HOOPER et al., 1987; JAFFE et al., 1982; PUGSLEY y SCHNAITMAN, 1978; REEVES y SUTTIE, 1968; SANDERS et al., 1984; SANDERS y WATANAKUNAKORN, 1986).

Parece ser poco frecuente el desarrollo de resistencia o la aparición de una susceptibilidad reducida frente a la ciprofloxacina y otras fluoroquinolonas relacionadas en las cepas inicialmente sensibles. La evaluación de la incidencia de resistencias es complicada porque el tipaje del fago generalmente no queda descrito en las publicaciones realizadas sobre este fenómeno, en consecuencia, en la mayoría de los casos, se hace imposible diferenciar entre el desarrollo verdadero de una resistencia y la selección de una cepa resistente de la misma especie. No obstante, se han indicado CMI incrementadas durante o tras el tratamiento de infecciones producidas por especies de **Klebsiella** (CHAPMAN et al., 1985; METHAR et al., 1986), **E. cloacae** (CHAPMAN et al., 1985), **S. marcescens** (SCULLY y NEU, 1986), **A. calcoaceticus** (ERON et al., 1985; GIAMARELLOU y GALANAKIS, 1987), especies de **Achromobacter** (PARRY, 1985), **S. aureus** (GREENBERG et al., 1987a; HUMPHREYS y MULVIHILL, 1985; MULLIGAN et al., 1987), **S. epidermidis** (SMITH et al., 1985), **Corynebacterium jeikeium** (MURPHY y FERGUSON, 1987), y más frecuentemente **P. aeruginosa** (AZADIAN et al., 1986; BRYANT y HARSTTEIN, 1987; CHAPMAN et al., 1985; CROOK et al., 1985; ERON et al., 1985; FOLLATH et al., 1986; GIAMARELLOU et al., 1985; GIAMARELLOU y GALANAKIS, 1987; GREENBERG et al., 1987a,b; HODSON et al., 1987; LEIGH et al., 1986; LODE et al., 1987; PANKEY et al., 1985; PARRY, 1985; PREHEIM et al., 1987; RAEBURN et al., 1987; ROBERTS et al., 1985; SAHL y WEBB, 1987; SAUERWEIN et al., 1985; SCULLY y NEU, 1986; 1987). En algunos de estos casos, la ciprofloxacina no pudo controlar la infección. Estas cepas resistentes normalmente se encontraron en pacientes cuya

capacidad para hacer frente a la infección estaba comprometida por defectos en el sistema inmunocompetente o por padecer alguna enfermedad (por ejemplo, diabetes mellitus), o en pacientes que padecían infecciones crónicas y/o complicadas. En el caso de **P. aeruginosa**, la resistencia frente a la ciprofloxacina, al igual que frente a otros fármacos antibacterianos antipseudomonales, se observaba más frecuentemente al inicio de las infecciones del tracto respiratorio inferior.

La incidencia de aparición de resistencia a la ciprofloxacina, definida como CMI > 2 µg/ml, ha sido cuantificada en ensayos clínicos llevados a cabo en su mayoría en Europa (SCHACHT y HULLMANN, 1986, 1987). La resistencia a la ciprofloxacina fué observada en catorce infecciones debidas a **P. aeruginosa** (5,2 % de todos los aislados de este especie), en tres de **S. marcescens** (21,4 %), en dos de **E. coli** (0,6 %), en dos de **K. pneumoniae** (3,2 %), en dos de **S. pneumoniae** (3,4 %), en una de **P. mirabilis** (1 %), en una de **S. aureus** (0,5 %) y en una de **B. catarrhalis** (1,5 %). En esta revisión sobre 1540 pacientes, se detectó únicamente una clara correlación entre el desarrollo de resistencias y el fallo clínico en solo cinco de ellos (0,3 %). En medicina veterinaria, estudios epidemiológicos de aparición de resistencias a las más nuevas fluoroquinolonas empiezan ahora a desarrollarse, por lo que por el momento no tenemos datos clínicos consistentes.

Por los estudios laboratoriales usando la técnica de paso único en **Enterobacteriaceae**, **Pseudomonas aeruginosa** y

Streptococcus faecalis, a través de concentraciones de ciprofloxacina de 8 ó más veces la CMI, la frecuencia de aparición de mutaciones que confieren resistencia a la misma se observó que era baja (1 de cada $10^7 - 10^9$) (CHIN y NEU, 1984; CULLMANN et al., 1985; SANDERS et al., 1984). Esta incidencia fué menor que la que apareció frente al ácido nalidíxico, y no mayor que la que se presenta frente a la amikacina (SANDERS et al., 1984). La misma frecuencia de aparición de resistencias se observa en otros bacilos Gram-negativos pertenecientes a los géneros **Klebsiella**, **Serratia** y **Providencia** (HOOPER et al., 1987).

La resistencia del **E. coli** KL16 en presencia de altas concentraciones de ciprofloxacina (de 5 a 10 veces la CMI) ocurre, todavía, a una frecuencia más baja (1 de cada $10^9 - 10^{11}$ ufc sembradas), hecho que sucede con el ácido nalidíxico de 100 a 1000 veces menos frecuentemente (LEBEL, 1988).

Frente a la enrofloxacin, se ha conseguido producir en medios de cultivo, por pases repetidos, un aumento de la resistencia (mutación multipaso), en forma lenta y gradual. Este hecho se observó en cepas primariamente sensibles, tras 12 pasos por cultivos, lográndose un ascenso de la CMI de tan solo dos grados, y puesto que los valores iniciales de la CMI son extremadamente bajos para la mayoría de los gérmenes de importancia clínica, parece ser que este hecho carecería de importancia práctica (SCHEER, 1987a).

1.6. Farmacocinética

Las propiedades farmacocinéticas de la mayoría de las fluoroquinolonas han sido estudiadas en animales de experimentación y en humanos voluntarios; solo la enrofloxacin, fluoroquinolona desarrollada para un uso exclusivo veterinario, ha sido estudiada únicamente en animales. En el hombre se ha estudiado la farmacocinética tanto en voluntarios sanos, como en pacientes principalmente en sujetos con función renal normal y alterada y en sujetos de edad avanzada.

Las concentraciones de las fluoroquinolonas y de sus metabolitos en plasma y otros fluidos biológicos han sido determinadas principalmente por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o por ensayos microbiológicos (BORNER et al., 1986c; KROL et al., 1986; MANOHARAN et al., 1985; NILSSON-EHLE, 1987; SCHOLL et al., 1987; VALLEE et al., 1986) habiéndose encontrado generalmente unos índices de reproductibilidad bastante semejantes en los dos métodos. La cromatografía por HPLC presenta mejor sensibilidad analítica y además tiene la ventaja de que puede determinarse separadamente las concentraciones del compuesto padre inalterado y la de sus metabolitos (ANADON et al. 1992).

1.6.1. Absorción

En el hombre, la biodisponibilidad de la norfloxacin parece ser de aproximadamente el 70 % de la dosis administrada, estando

la absorción ligeramente retrasada cuando el fármaco se administra conjuntamente con los alimentos (HOLMES et al., 1985). Tras la administración de una dosis oral de 400 mg de norfloxacin, las concentraciones séricas máximas medias (1,35 - 1,58 $\mu\text{g/ml}$) fueron alcanzadas entre 1 - 2 horas tras la administración (HOLMES et al., 1985; NEER, 1988). A dosis más elevadas (de 800 mg, o superiores) se altera la relación lineal aproximada existente entre la concentración sérica máxima (C_{max}), el area bajo la curva concentración vs tiempo (AUC) en función de la dosis administrada. SWANSON et al. (1983) observaron con la dosis alta de 800 mg de norfloxacin que la concentración sérica máxima media, el area bajo la curva entre las 0 - 12 horas, y la recuperación urinaria del fármaco no-metabolizado, dentro del mismo periodo, eran relativamente algo más bajas en relación con dosis menores. No obstante, en 48 horas, el porcentaje de fármaco recuperado en orina no fué sustancialmente diferente en las distintas dosis, lo que nos indica que la absorción puede estar retrasada en las dosis más elevadas. Sin embargo, ABIKO et al. (1981) encontraron que 8 horas tras la administración de 1600 mg, la concentración era 6,5 veces más alta que la conseguida tras una dosis de 800 mg, obteniendo un incremento similar para el area bajo la curva de concentración sérica vs tiempo.

En perros, tras la administración oral de norfloxacin, a dosis de 11 y 22 mg/kg, se observa una buena y rápida absorción. Cuando se aplica la dosis de 11 mg/kg, una concentración sérica máxima de 1,0 $\mu\text{g/ml}$, se alcanza a la 1 hora. Cuando se

administra a la dosis de 22 mg/kg, una concentración sérica máxima de 2,8 $\mu\text{g/ml}$ se alcanza a las 2 horas. En relación a la concentración sérica, el area bajo la curva desde las 0 a las 12 horas fue de 8,77 mg.h /l tras la dosis de 11 mg/kg, y de 18,27 mg.h/l tras la dosis de 22 mg/kg; con esta última dosis las concentraciones séricas obtenidas estaban por encima de las CMI para la mayoría de los organismos patógenos sensibles a la norfloxacin (WALKER et al., 1989).

En pollos broiler, la norfloxacin también presenta una rápida absorción alcanzándose tras dosis única oral de 8 mg/kg una C_{max} de 2,89 $\mu\text{g/ml}$ a los 13 minutos, la biodisponibilidad es de un 57 % (ANADON et al., 1992).

Igualmente, numerosos estudios demuestran en humanos, que como la norfloxacin, también la ciprofloxacina se absorbe rápidamente tras dosis de 50 a 1000 mg (BERGAN et al., 1986c, 1987; BRITAIN et al., 1985; DRUSANO et al., 1986b; HÖFFKEN et al., 1985a; PLAISANCE et al., 1987; TARTAGLIONE et al., 1986; ULLMAN et al., 1984; WINGENDER et al., 1984b), alcanzándose una biodisponibilidad de alrededor del 71,7 % (WISE et al., 1984), aunque otros autores citan una biodisponibilidad entre 64 y 85 % (BERGAN et al., 1986c; DRUSANO et al., 1986b; HOFFKEN et al., 1985a; PLAISANCE et al., 1987). Se ha sugerido que las posibles diferencias en el cociente desintegración/disolución dentro de las formulaciones orales estudiadas pueden explicar esta variabilidad (PLAISANCE et al., 1987).

Tras la administración oral de dosis de 50 a 1000 mg de ciprofloxacina, la concentración máxima plásmatica se encuentra entre las 0,5 - 2 horas, con niveles de concentración de 0,28 - 3,38 $\mu\text{g/ml}$. La concentración máxima media aumenta proporcionalmente con la dosis, dentro del rango terapéutico normal de dosificación. El AUC fué también proporcional a la dosis. Al aumentar la dosis oral se observó, también, un ligero incremento del tiempo de latencia de aproximadamente 0,3 horas tras la administración de 100 mg, hasta aproximadamente de 0,5 horas tras la ingesta de 1000 mg. Al igual que en la norfloxacina, se ha observado que la administración de este fármaco junto con el alimento puede retrasar su absorción, aumentando ligeramente el tiempo en el que se alcanza la concentración máxima plásmatica (T_{max}) (LEDERGERBER et al., 1985; NEER, 1988). Tras la administración de una dosis oral única de 250 y 500 mg, la concentración máxima alcanza valores entre 0,9 y 1,7 $\mu\text{g/ml}$ y 1,5 y 3 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente (ARONNOFF et al., 1984; BERGAN et al., 1986c; BERGAN y THORSTEINSSON, 1985; BORNER et al., 1986a; DAVIS et al., 1984; HOFFLER et al., 1984; LEBEL et al., 1986b; LEDERGERBER et al., 1985; WINGENDER et al., 1984b). Se han observado grandes variaciones entre ensayos en función de la dosis, sugiriéndose que la absorción de la ciprofloxacina puede que no siga una cinética de primer orden (NILSON-EHLE, 1987; TARTAGLIONE et al., 1986). Algunos autores describen descensos en la concentración máxima y en el AUC al aumentar la dosis (BERGAN y THORSTEINSSON, 1985; BORNER et al., 1986a; HOFFKEN et al., 1985a); para explicar este hecho se ha sugerido que la absorción de la ciprofloxacina es por un

mecanismo de transporte pasivo y que probablemente varía de acuerdo al pH intestinal (ARONOFF et al., 1984; BERGAN y THORSTEINSSON, 1985).

La administración de dosis orales múltiples de ciprofloxacina de 250 y 500 mg dos veces al día durante un periodo de 3 - 8 días a voluntarios sanos no parece producir una acumulación plasmática del fármaco significativa, observándose a las 12 horas post-administración concentraciones plasmáticas superiores a las CMI para la mayoría de los microorganismos patógenos de significancia clínica (ARONOFF et al., 1984; BERGAN et al., 1986a, 1987; LEDERGERBER et al., 1985; ULLMAN et al., 1984). La concentración plasmática máxima y mínima en el último día de tratamiento fue del orden de 1 - 1,5 $\mu\text{g/ml}$ y 0,16 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente, tras dosis de 250 mg (ARONOFF et al., 1984; LEDERGERBER et al., 1985); y de 2,3 $\mu\text{g/ml}$ y 0,18 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente tras dosis de 500 mg (BERGAN et al., 1986a). Por el contrario, estudios realizados por BRUMFITT et al. (1984) mostraron un aumento significativo de la concentración plasmática, que se cifró en un 59 % tras la administración oral de 500 mg de ciprofloxacina dos veces al día durante 7 días consecutivos. Esta discrepancia puede ser debida a la avanzada edad de los pacientes empleados en este último estudio, en los cuales se preven alteraciones en el aclaramiento renal y no-renal.

En perros se ha estudiado la farmacocinética de la ciprofloxacina tras dosis oral de 11 y 23 mg/kg cada 12 horas

durante 4 días; las concentraciones séricas de dicho fármaco fueron medidas tras la primera y la séptima dosis. La concentración máxima fué influenciada por la dosis y el número de dosis (1,18 $\mu\text{g/ml}$ y 5,68 $\mu\text{g/ml}$, con dosis de 11 ó 23 mg/kg, respectivamente, tras la séptima dosis, frente a 0,98 $\mu\text{g/ml}$ y 2,33 $\mu\text{g/ml}$ con la administración única de 11 o 23 mg/kg, respectivamente). El AUC entre 0 - 12 h fué igualmente dependiente de la dosis y número de dosis administrada. El T_{max} (1,5 h) no fué afectado ni por la frecuencia de la administración de dosis, ni por esta misma (WALKER et al., 1990). A ambas dosis la ciprofloxacina alcanzó concentraciones séricas superiores a las CMI_{90} para los microorganismos patógenos ensayados, con excepción de **B. fragilis**.

Asimismo se ha estudiado la farmacocinética de la ciprofloxacina en terneros y cerdos (NOUWS et al., 1988). En terneros se ha estudiado a la dosis de 2,8 mg/kg i.v. y oral con reemplazante lacteo. En cerdos se ha estudiado a la dosis de 3 mg/kg i.v. y oral. La ciprofloxacina fué rápidamente distribuida en el organismo, mostrando una vida media de eliminación de 2,5 horas en ambas especies. También fué rápidamente absorbida tras la administración oral (T_{max} de 2 a 3 horas). La biodisponibilidad oral en terneros fué de un 53 % y para cerdos 37 % . En aves, la ciprofloxacina se absorbe más ampliamente que la norfloxacina. Tras dosis única de 8 mg/kg se alcanza una C_{max} de 3,5 $\mu\text{g/ml}$ en un T_{max} de 13 minutos (ANADON et al., 1990b).

La enrofloxacin, fluoroquinolona por el momento de uso

exclusivamente veterinario, ha sido sometida a diversos estudios preliminares iniciales farmacocinéticos en diversos animales domésticos bóvidos, porcino, perros y gatos, y también aves (pollos y patos) tras diferentes vías de administración a dosis en un rango de 2,5 a 10 mg/kg. Dependiendo de las especies y del modo de administración, la misma dosis produce diferentes concentraciones máximas, como regla general a las 0,5 a 2 horas; por ejemplo a la dosis de 2,5 mg/kg se obtuvieron aproximadamente 0,5 µg/ml en suero en aves frente a 1,0 µg/ml en las especies mamíferas estudiadas. La vida media de eliminación plasmática en estas especies animales estudiadas está en un rango de 2 a 6 horas. (SCHEER, 1987b).

El estudio farmacocinético de la enrofloxacin en el perro a dosis única de 2,5 mg/kg por vía subcutánea y de 5 mg/kg por vía oral demuestra niveles séricos máximos de 1,0 y 1,8 µg/ml que se alcanzan entre las 0,5 - 1 hora (T_{max} de 0,8 horas tras vía s.c. frente a un T_{max} de 1,2 horas tras la vía oral) (SCHEER, 1987b).

1.6.2. Distribución

La norfloxacin se distribuye ampliamente en el organismo corporal. Los volúmenes de distribución observados alcanzan altos valores (SHIMADA et al., 1983 ; WISE, 1984).

Tras la administración oral de norfloxacin, 200 mg, en el hombre, se alcanzan concentraciones inferiores a las séricas en

el tejido palatino, mucosa maxilar, tejido vaginal, ovario, cortex renal (IWASAWA, 1981; SAITO et al., 1981). Concentraciones superiores a las séricas, fueron encontradas en el conducto y vesícula biliar, así como en el tejido hepático y en médula renal (OZAKI et al., 1981, SAITO et al., 1981; SHIMURA et al., 1983; YAMAMOTO et al., 1981). La concentración alcanzada en el esputo fue relativamente baja (MATSUMOTO et al., 1981; NAKAGAWA et al., 1981). La norfloxacin se distribuye ampliamente en tejido renal, en próstata, testículos, útero, cervix, vagina, trompas uterinas, tejido de la tonsila palatina, mucosa del seno maxilar, hígado y vesícula biliar, fluido seminal, esputo, fluido vesicular, suero, excretandose principalemnte por bilis y orina (NEER 1988).

En perros, mediante implantación subcutanea de celdas o cajas de silicona, se ha estudiado la distribución de la norfloxacin en el fluido intersticial. El fármaco fué administrado a la dosis de 11 y 22 mg/kg cada 12 horas, durante 4 días. La norfloxacin penetró lentamente en las celdas observandose la concentración máxima a las 5 horas tras la administración. La concentraciones tras la 1ª y 7ª dosis de 11 mg/kg fueron 0,3 µg/ml y 0,7 µg/ml, mientras que tras la 1ª y 7ª dosis de 22 mg/kg fueron 1,2 µg/ml y 1,6 µg/ml, respectivamente. El porcentaje de penetración medido por la relación UC_{ICF}/AUC_{suero} fué del 71 % y 90 % tras la dosis de 11 ó 22 mg/kg, respectivamente (WALKER et al., 1989).

En algunos estudios realizados con la ciprofloxacina, se ha evaluado el volumen aparente de distribución (Vd_{area}) a partir de

datos farmacocinéticos obtenidos tras la administración de dosis orales; los valores estimados han sido aproximadamente de 3,5 l/kg, lo que sugiere una buena distribución tisular (DRUSANO et al., 1986b; HÖFFKEN et al., 1985a). Según LEBEL (1988) el volumen aparente de distribución de la ciprofloxacina tras dosificación oral varía en un rango de 2,5 a 6 l/kg; tras la administración intravenosa, el volumen de distribución alcanza valores desde 2 a 3 l/kg.

Se ha observado una distribución orgánica rápida de la ciprofloxacina en voluntarios sanos que recibieron dosis únicas y múltiples endovenosamente. El perfil concentración plasmática-tiempo sigue un modelo bicompartimental, obteniéndose una fase de distribución con una vida media ($t_{1/2\alpha}$) de 0,2 - 0,4 horas. El volumen de distribución en el estado estacionario (V_{ss}) y el $V_{d_{area}}$ fueron 1,7 y 2,7 l/kg respectivamente. El volumen en el compartimento central (V_c) se estimó entre 0,16 y 0,63 l/kg, lo que aproximadamente representa el volumen total del agua extracelular (DRUSANO et al., 1986a; GONZALEZ et al., 1985a,b; HÖFFKEN et al., 1985a; WINGENDER et al., 1984b).

Numerosos estudios han sido realizados en el hombre sobre la distribución orgánica de la ciprofloxacina (AIGNER y DALHOFF, 1986; BERGAN et al., 1986b; BERGOGNE-BEREZIN et al., 1986; BOEREMA et al., 1985; DAN et al., 1987; DASCHNER et al., 1986; ESPOSITO et al., 1987; GOORMANS et al., 1986; LEBEL et al., 1986b; LICITRA et al., 1987; SCHELENKOFF et al., 1986; SEGEV et al., 1986; VALAINIS et al., 1986; WISE y DONOVAN, 1987; WOLFF et

al., 1987). La ciprofloxacina se distribuye ampliamente en los tejidos corporales. También existe evidencia de distribución osea; dependiendo de la dosis (500, 750 y 1000 mg), se han detectado concentraciones en tejido oseo de 0,4 a 1,6 $\mu\text{g/g}$ (FONG et al., 1985). Por su parte WITTMAN et al. (1985) señalaron que alrededor del 40 % de la ciprofloxacina que penetra en el tejido oseo se une de forma reversible a los elementos inorgánicos.

La ciprofloxacina también se distribuye a nivel ocular en el humor acuoso. En pacientes sometidos a cirugía de cataratas y que recibían dosis únicas de 1000 mg de ciprofloxacina se detectaron concentraciones de 0,56 $\mu\text{g/ml}$ en el humor acuoso (FERN et al., 1986); estas concentraciones fueron menores tras la administración de dosis únicas que tras la de dosis múltiples, hecho que sugiere una acumulación de dicho fármaco a nivel de la cámara anterior (LUTHY et al., 1986). Tras esta observación podría sugerirse que la ciprofloxacina pudiera ocupar un papel en el tratamiento de infecciones oculares producidas por microorganismos sensibles.

El porcentaje de unión de la ciprofloxacina a proteínas plasmáticas, determinado por técnicas de ultrafiltración, alcanza valores del orden de un 16,4 - 28 % con independencia del pH del medio y de la concentración sérica del fármaco (JOOS et al., 1985). La unión de la ciprofloxacina a proteínas plasmáticas determinada por técnica de ultracentrifugación alcanza valores de al menos un 40 % (HÖFFKEN et al., 1985a).

Al igual que la norfloxacin, también se ha estudiado la distribución de la ciprofloxacina en el fluido intersticial en perros por la implantación de cajas o celdas de silicona subcutáneamente. Se evaluó la dosis de 11 y 23 mg/kg durante 4 días (7 dosis). Tras la 1ª dosis se obtuvo una C_{max} de 0,43 y 0,95 $\mu\text{g/ml}$, con un T_{max} de 7,95 y 8,23 horas y una relación AUC_{TCF}/AUC_{suero} (%) de 43,25 y 39,25 respectivamente para las dosis de 11 y 23 mg/kg. Tras la 7ª dosis, se obtuvo una C_{max} de 0,82 y 2,90 $\mu\text{g/ml}$, con un T_{max} de 4,88 y 4,57 horas y una relación AUC_{TCF}/AUC_{suero} (%) de 96,49 y 95,05 respectivamente para las dosis de 11 y 23 mg/kg (WALKER et al., 1990).

Con respecto a la enrofloxacin, en el perro tras una dosis oral de 5 mg/kg, a la primera hora post-administración se encontraron las siguientes concentraciones orgánicas de enrofloxacin: en pulmón 2,5 $\mu\text{g/g}$, riñón 3,5 $\mu\text{g/g}$, hígado 5,8 $\mu\text{g/g}$, bazo 2,8 $\mu\text{g/g}$, piel 0,7 $\mu\text{g/g}$, grasa 1,4 $\mu\text{g/g}$, músculo 2,3 $\mu\text{g/g}$, cerebro 0,4 $\mu\text{g/g}$, músculo esquelético 0,7 $\mu\text{g/g}$, corazón 3,1 $\mu\text{g/g}$, corteza suprarrenal 2,1 $\mu\text{g/g}$, ovario 0,3 $\mu\text{g/g}$, útero 0,2 $\mu\text{g/g}$, humor acuoso 0,09 $\mu\text{g/ml}$, líquido cefalorraquídeo 0,9 $\mu\text{g/ml}$, bilis 30 $\mu\text{g/ml}$, y orina 25 $\mu\text{g/ml}$ (SCHEER 1987b). La enrofloxacin se distribuye también por lo tanto ampliamente en el organismo corporal.

La vida media de eliminación de la enrofloxacin en suero en perros tras administración subcutánea, se calculó en 3 - 5 horas, mientras que tras administración oral fué de 2 - 3 horas (SCHEER 1987b).

1.6.3. Metabolismo y eliminación

La norfloxacin, al igual que otras fluoroquinolonas, sufre un amplio metabolismo y se elimina principalmente por vía renal. Aproximadamente, solo alrededor de un 30 % de la dosis administrada de norfloxacin se elimina de forma inalterada sin sufrir biotransformación por vía urinaria. En un estudio realizado por ABIKO et al. (1981) en humanos se observó que la excreción urinaria de éste fármaco en forma inalterada variaba de un 33 a 39 % de la dosis administrada, cuando la dosis oscilaba entre 100 y 800 mg, pero que esta excreción urinaria se elevaba al 48 % cuando se administraba una dosis de 1000 mg. Sin embargo, SWANSON et al. (1983) observaron que la cantidad de norfloxacin inalterada recuperada en la orina, entre las 0 y 12 horas post-administración, iba siendo progresivamente más baja en relación con el incremento de la dosis, aunque la excreción urinaria en 48 horas fué independiente de la dosis. Estas variaciones en la recuperación urinaria pueden ser debidas a variaciones en la absorción del fármaco.

Se han descrito e identificado 6 metabolitos de la norfloxacin por modificaciones en el anillo piperazina. Los metabolitos principales detectados en la orina son los metabolitos oxo-, N-desetil-, acetil- y formil-norfloxacin, todos ellos poseen actividad microbiológica, mayoritariamente los metabolitos formil-, oxo- y N-desetil-, aunque inferior a la del fármaco inalterado (HOLMES et al., 1985). La norfloxacin se elimina como mínimo un 10 % de la dosis administrada en forma de

metabolitos en la orina (ADHAMI et al., 1984; OZAKI et al., 1981; WISE et al., 1984b). Obviamente, el metabolismo y excreción de la norfloxacin es dependiente del funcionalismo hepático y renal, hecho constatado en pacientes con estas alteraciones (EANDI et al., 1983).

El aclaramiento renal de la norfloxacin observado por SWANSON et al. (1983), varía de 16,32 a 17,76 l/h. WISE (1984) asumiendo, un valor de unión a proteínas séricas de un 14 %, calculó un aclaramiento renal de 19,5 l/h. Estos resultados sugieren una secreción tubular activa para la norfloxacin.

La solubilidad de la norfloxacin en la orina depende de la temperatura y del pH, así a 37°C se disuelve libremente a concentraciones menores a 40 g/l a pH de 5,5 o inferior a este, pero a pH de 7,5 la solubilidad se sitúa a su nivel más bajo de 0,45 g/l a 25 °C y 1,2 g/l a 37°C (HOLMES et al., 1985).

La ciprofloxacina también se elimina principalmente por vía renal en forma inalterada y en metabolitos. Se han identificado en orina 4 metabolitos : desetilen-, sulfo-, oxo-, y formil-ciprofloxacina (BEERMANN et al., 1986, BORNER et al., 1986b; GAU et al., 1986; ZEILER et al., 1987). Estos metabolitos poseen actividad antimicrobiana, aunque siempre menor que la del fármaco inalterado. La actividad antibacteriana de los metabolitos desetilen- y oxo- es comparable a la del ácido nalidíxico y a la de la norfloxacin. El metabolito formil- es el más activo de todos, pero también es el que ha sido identificado en menor

proporción (ZEILER et al., 1987).

Tras la administración oral de una dosis única de 259 mg de ciprofloxacina a voluntarios sanos, se recuperó en 5 días en orina y en heces el 94 % de la dosis administrada, en forma de ciprofloxacina inalterada y de sus metabolitos. La mayor parte se recuperó en orina (55,4 %). La ciprofloxacina inalterada constituyó la principal fracción detectada, tanto en orina (45 %), como en heces (25 %). La excreción total de todos los metabolitos representó un 19 % . El principal metabolito urinario detectado fué el oxo-metabolito, que representó el 6,2 % de la dosis administrada, mientras que los metabolitos desetilen- y sulfo- se recuperaron en un 3,7 % y 1,3 % respectivamente. Por su parte, el metabolito sulfo-ciprofloxacina fué el principal metabolito detectado en heces, recuperandose un 6 % de la dosis administrada. En heces, además, solo se recuperaron cantidades muy pequeñas de los metabolitos desetilen- (0,5 % de la dosis) y oxo- (1 % de la dosis), mientras que el formil-metabolito fué detectado unicamente a niveles traza en heces y en orina (BEERMANN et al., 1986; DRUSANO, 1987). Igualmente, el metabolito formil-ciprofloxacina ha sido detectado por BEERMANN et al. (1986) en cantidades muy pequeñas (<0,1% de la dosis) en la orina.

Tras la administración endovenosa a voluntarios sanos de dosis únicas de 107 mg de ciprofloxacina, el 81 % de la dosis se recuperó en orina y en heces en un periodo de 5 días. En orina se detectó aproximadamente un 75 % de la dosis. Al igual que tras

la administración oral, la mayor fracción identificada correspondió a la ciprofloxacina inalterada, tanto en orina como en heces, recuperandose el 62 % y 15 % de la dosis, respectivamente. La excreción total de todos los metabolitos alcanzó valores de un 12 % de la dosis administrada, siendo el principal metabolito urinario que se detectó la oxo-ciprofloxacina (5,6 % de la dosis), seguido por los metabolitos sulfo- y desetilen- (2,6 % y 1 % de la dosis, respectivamente). En heces solo se recuperaron bajas cantidades de los metabolitos, aproximadamente un 1,3% de la dosis correspondiente al oxo-, y por debajo del 1% de desetilen- y sulfo-ciprofloxacina. Al igual que tras la administración oral, tampoco se detectó en cantidades significativas el metabolito formil-ciprofloxacina, ni en heces ni en orina (BEERMANN et al., 1986; DRUSANO, 1987).

La formación de una mayor cantidad de metabolitos tras la administración oral frente a la administración endovenosa, sugiere que la ciprofloxacina sufre un efecto de "primer paso" es decir una circulación enterohepática.

Los estudios de TANIMURA et al. (1986) demostraron que la ciprofloxacina también se excreta vía biliar. Por su parte, PARRY et al. (1988) indicaron que por esta vía se eliminaba la ciprofloxacina en menos de un 1 % de la dosis administrada en forma inalterada y metabolitos, principalmente el metabolito sulfo-ciprofloxacina. TANIMURA et al. (1986) observaron concentraciones biliares máximas de ciprofloxacina de 11 $\mu\text{g/ml}$, a las 4 horas tras administración oral de dosis única de 400 mg.

Un metabolito glucuroconjugado (el grupo carboxi en posición 3 puede sufrir glucuroconjugación), representa aproximadamente el 30 % de la ciprofloxacina total excretada por bilis.

La eliminación de la ciprofloxacina parece no ser dependiente de la dosis; así tras la administración oral de dosis únicas de 50 a 1000 mg, el porcentaje de la dosis del farmaco inalterado recuperado en orina a las 48 horas varía de un 29 % a un 44 % (HÖFFKEN et al., 1985a; TARTAGLIONE et al., 1986; WINGENDER et al., 1984a); y tras la administración oral de dosis multiples, el porcentaje de la dosis de ciprofloxacina excretado en orina alcanza valores entre un 31 % y un 44 % de la dosis administrada en cada intervalo de dosificación. Tras la administración endovenosa de dosis únicas de 50 a 200 mg de ciprofloxacina, los porcentajes de la misma excretados en orina a las 48 horas fueron de un 45 % a un 62 % (DRUSANO et al., 1986a; DUDLEY et al., 1987; HÖFFKEN et al., 1985; WINGENDER et al., 1984a).

En voluntarios sanos, el aclaramiento plasmático total de la ciprofloxacina, dosis-dependiente, oscila entre 23 y 43 l/h/1,7 m². El aclaramiento renal representa un 60-70 % del aclaramiento plasmático total, que es aproximadamente tres veces superior al aclaramiento de creatinina; este hecho nos indica que la excreción renal no se produce exclusivamente por un mecanismo de filtración glomerular, sino que también existe una secreción tubular activa (BORNER et al., 1986b; DRUSANO, 1987; DRUSANO et al., 1986a; GONZALEZ et al., 1985a; HÖFFKEN et al., 1985a; WISE

et al., 1984a). Este hecho fué confirmado con la administración conjunta de probenecid, lo que redujo el aclaramiento renal de la ciprofloxacina en un 45 % (WINGENDER et al., 1984a).

La vida media plasmática de eliminación de la ciprofloxacina tras dosis orales únicas o múltiples, 50 a 1000 mg, ha sido estimada entre 3 y 7 horas. La eliminación de este fármaco, parece ser independiente de la dosis administrada y de la duración del tratamiento (ARONOFF et al., 1984; BRITTAIN et al., 1985; HÖFFKEN et al 1985a; WINGENDER et al., 1984b). La vida media plasmática de eliminación de la ciprofloxacina tras la administración endovenosa a dosis única o múltiple, 50 a 200 mg, a voluntarios sanos está cifrada en 3 a 5 horas (DRUSANO et al., 1986a; DUDLEY et al., 1987; GONZALEZ et al., 1985a; HÖFFKEN et al., 1985a; WINGENDER et al., 1984b).

La edad del paciente influye obviamente sobre la farmacocinética de la ciprofloxacina. Se ha descrito en pacientes de edad avanzada incrementos en las concentraciones máximas plasmáticas así como en el AUC en comparación con los resultados observados en voluntarios adultos jóvenes (BALL et al., 1986; BAYER et al., 1987). LEBEL et al. (1986a) observaron un aumento de casi dos veces la vida media de eliminación en pacientes de edad avanzada. Estos resultados también han sido corroborados por HIRATA et al. (1989), observando además una disminución del aclaramiento renal y del volúmen aparente de distribución en el estado estacionario en pacientes de edad avanzada. Asimismo también observaron un aumento de casi dos veces de los niveles

plasmáticos máximos, y del T_{\max} de la ciprofloxacina. Todos estos efectos son propios sean debidos a alteraciones renales y/o hepáticas.

La eliminación de la enrofloxacin se produce también principalmente por excreción renal. La vía biliar es también aunque en menor grado una vía importante de excreción con diferencias cuantitativas según las diferentes especies animales estudiadas. La enrofloxacin se metaboliza en ciprofloxacina y seguidamente en todos los metabolitos anteriormente descritos para la ciprofloxacina; principalmente se detectan los metabolitos oxo- y desetilen- (SCHEER, 1987b).

En función de lo expuesto, se admite que las principales reacciones de biotransformación de las fluoroquinolonas implican el anillo piperazinil y sus substituyentes. En animales domésticos, las reacciones predominantes de biotransformación son (1) N-dealquilación, 2) conjugación glucurónica al nitrógeno en posición **para** del anillo piperazinil, (3) oxidación en posición **orto** a la amina substituida y (4) apertura del anillo piperazinil (VANCUTSEM et al., 1990).

1.7. Toxicidad e interacciones farmacológicas

Las fluoroquinolonas, norfloxacina, ciprofloxacina y enrofloxacin, son unos fármacos antibacterianos que pueden ser considerados con seguridad terapéutica, respetando la posología y modo de empleo recomendado; por ejemplo de todos los estudios

recogidos unicamente se ha tenido que interrumpir la terapia en el hombre para el caso de la ciprofloxacina en menos de un 2 % de los pacientes (ARCIERI et al., 1986). Inicialmente, su principal uso fué en infecciones del tracto urinario y enfermedades diarréicas. Sin embargo, estos compuestos también tienen valor terapéutico en infecciones del tracto respiratorio, cutaneas y en hueso.

El perfil toxicológico publicado para las fluoroquinolonas norfloxacin, ciprofloxacina y enrofloxacin, entre otras nuevas fluoroquinolonas, incluye artropatía, nefropatía, efectos gastrointestinales, efectos sobre el sistema nervioso central (SNC) y periférico, toxicidad ocular, deterioro de la espermatogénesis, efectos cardiovasculares, posible mutagenicidad y fotosensibilidad (SCHLÜTER, 1987, 1989; CHRIST et al., 1988; ANADON, 1992; ANADON y MARTINEZ-LARRANAGA, 1992). Los efectos adversos más comunes implicados en el uso clínico se sintetizan en la Tabla 1.

En lo que respecta a los desórdenes en el tracto gastrointestinal, las nauseas y vómitos son los síntomas más frecuentes; otros síntomas gastrointestinales observados son dolor abdominal, diarrea, dispepsia y disfagia. Los efectos sobre el SNC más comunmente comunicados son mareos y somnolencia; otros efectos secundarios que afectan al sistema nervioso central son depresión, ansiedad, vértigos, euforia, alucinaciones, dolor de cabeza, insomnio y sequedad de boca. Asimismo se han observado efectos secundarios dermatológicos y de hipersensibilidad, tales

Tabla 1.- Efectos adversos que pueden presentarse por la terapia de fluoroquinolonas.

Efecto adverso	Implicaciones en el uso clínico
<p>Artropatías en animales jóvenes</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Contraindicación en animales en período de gestación y en lactación; animales jóvenes - Precauciones deben tomarse en pacientes con fibrosis quística
<p>Toxicidad SNC</p> <ul style="list-style-type: none"> - En humanos depresión, ansiedad, euforia, somnolencia, insomnio - En animales efectos de comportamiento 	<ul style="list-style-type: none"> - En pacientes con riesgo evaluación beneficio/ riesgo
<p>Nefropatía</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Reducir la dosis en casos de insuficiencia renal
<p>Artropatías</p> <ul style="list-style-type: none"> - Se presentan en tratamientos prolongados 	<ul style="list-style-type: none"> - Exámenes periódicos para detectar artropatías

como eritema, prurito y salpullido. Otras alteraciones observadas son epifora, alteración del gusto, presencia de zumbidos, secreción vaginal y taquicardia (HOLMES et al., 1985).

La incidencia en el hombre para todas las reacciones adversas descritas es muy baja, en un rango de 4 % a 16 % (BALL, 1986; SCHACHT et al., 1988). Así, los efectos secundarios gastrointestinales (nausea, diarrea, vómito) tienen una incidencia de 0,8 % - 10 % . La incidencia de hipersensibilidad y reacciones cutáneas es de 0,4 % - 3 % . El rango para las reacciones sobre el SNC y periférico es de 0,9 % - 4 % ; reacciones agudas del SNC, tales como alucinaciones, depresión y confusión, ocurren en menor de un 0,5 % de los casos. Otras reacciones adversas que incluyen fotosensibilidad, efectos cardiovasculares, efectos hematológicos, efectos sobre la función renal y hepática, y sobre el sistema muscular esquelético han sido observadas con una incidencia de 0,5 % - 2,0 % (GARLANDO et al., 1985; KOBAYASHI, 1985; SCHACHT et al., 1985; ARCIERI et al., 1986, 1987; MULLIGAN et al., 1987; THORSTEINSSON et al., 1987; SCHLÜTER, 1987; SMITH, 1987; LEBEL, 1988; CHRIST et al., 1988).

BAILEY et al. (1989) observaron tras tratamiento prolongado con norfloxacin una tendinitis en dos pacientes inmunosuprimidos con transplante renal, síntoma que desapareció tras el cese del tratamiento.

La "enfermedad del suero" es una reacción sistémica de hipersensibilidad inicialmente descrita en infantes que reciben

la antitoxina de la difteria conteniendo suero de caballo. Estos menores presentan un síndrome de fiebre, linfadenopatía, erupciones cutáneas, artralgia y ocasionalmente proteinuria. Desde la descripción inicial de la "enfermedad del suero", ésta enfermedad ha sido descrita también tras la administración de globulina antilinfocítica T de caballo en pacientes con trasplante de médula ósea (LAWLEY et al., 1984). Diversos fármacos que incluyen penicilinas, cefalosporinas, sulfamidas, tetraciclinas, isoniazida, barbitúricos, fenitoina, antiinflamatorios no esteroideos, salicilatos, captopril, propranolol e hidralazina, también se ha descrito pueden inducir en ciertos individuos un síndrome clínico indistinguible de la "enfermedad del suero" (ALANIS y WEINSTEIN, 1983; LIN, 1986). Recientemente se ha descrito un efecto secundario tipo "enfermedad del suero" relacionado con el tratamiento de ciprofloxacina (SLAMA, 1990), reacción adversa que no había sido hasta entonces referida en la literatura para esta u otras flouoroquinolonas (HOOPER y WOLFSON, 1985).

Es reconocido que el ácido nalidíxico, así como otras más nuevas fluoroquinolonas, pueden ser una causa potencial de reacciones fototóxicas (ZELICKSON, 1964; BRAUNER, 1975; BARAN y BRUN, 1986; PETRI y TRONNIER, 1986). En estas reacciones, la absorción por la piel de la radiación A ultravioleta (UVA) causa liberación de calor, peróxidos y radicales libres, conduciendo a lesión tisular. Por lo tanto, es un hecho de que el tratamiento con fluoroquinolonas con la exposición a la luz solar puede dar lugar a tales reacciones. No obstante estas reacciones adversas

parecen no presentarse con alta frecuencia como ha sido indicado anteriormente.

En perros, se han observado tras dosis de 22 mg/kg de norfloxacin desórdenes gastrointestinales que se anulan cuando la dosis se disminuye a 16,5 mg/kg (WALKER et al., 1989). Otros signos de toxicidad producidos por la terapia de norfloxacin en perros incluyen erosión de los cartílagos sobre todo en perros jóvenes y la aparición de cristaluria, efecto constatado con dosis de 50 mg/kg durante periodos prolongados (CORRADO et al., 1987).

MACHIDA et al. (1990) describen alteraciones en las articulaciones de diferentes especies animales jóvenes (ratas, ratones, conejos, perros y monos) tras tratamiento con norfloxacin. Perros tratados oralmente a dosis de 20, 50 y 200 mg/kg durante 7 días consecutivos fueron sometidos a exámenes. A la dosis de 200 mg/kg a partir del tercer día se observó comportamiento anormal, tal como rechazo a levantarse, actividad motora reducida y marcha envarada. La dosis mínima que parecía originar lesiones articulares fué 50 mg/kg; los perros tratados con esta dosis exhibían formación de vesículas y erosiones locales. El valor de C_{max} plasmática de norfloxacin a esta mínima dosis en que se producen artropatías fue de 5,11 $\mu\text{g/ml}$. Todavía se desconoce la patogénesis y/o mecanismos bioquímicos implicados a nivel molecular en el desarrollo de las artropatías; los hallazgos morfológicos incluyen erosiones en el cartílago junto con una efusión no inflamatoria y células libres en la cavidad

articular; este estado se traduce en una reducción en la viabilidad del cartílago o en una degeneración, siendo generalmente el cartílago incapaz de regenerarse por lo que este estado patológico puede servir como el punto de inicio para una artropatía deformante (CHRIST et al., 1988).

Al igual que ocurre con la norfloxacin, existe evidencia de que la administración crónica de ciprofloxacina produce alteraciones en las articulaciones que soportan peso en algunas especies animales. Se ha demostrado que perros jóvenes tratados con 100 mg/kg de ciprofloxacina, vía oral, durante 14 días, desarrollan artropatías; aunque no todas se manifiestan macroscópicamente, si se observa por resonancia magnética una afectación del líquido sinovial (SCHLÜTER, 1989). También la enrofloxacin en perros cachorros a dosis de 30-60 mg/kg, 14 días, produce lesiones en cartílago, de naturaleza degenerativa, de las articulaciones que soportan peso (BAUDITZ, 1987).

Con respecto a las alteraciones renales, que incluyen depósitos de cristales de complejos de magnesio/proteína a nivel de los tubulos renales, este efecto podría tratarse de una reacción de pH específica que puede suceder más probablemente en especies animales que presenten un pH urinario alcalino como son la rata y el mono. Los estudios sugieren que la relativa insolubilidad de la ciprofloxacina a pH alcalino podría conducir a la aparición de cristaluria, dando como resultado una lesión tubular (SCHLÜTER, 1986). THORSTEINSSON et al. (1986) indicaron que una dosis única de 1000 mg de ciprofloxacina condujo al

desarrollo de cristaluria en un voluntario sano cuya dieta era suplementada con bicarbonato sódico para alcalinizar la orina. Por el contrario, voluntarios sanos que recibieron dosis únicas de 500 a 1000 mg de ciprofloxacina, con dieta regular o suplementada con cloruro amónico para conseguir la acidificación de la orina, no desarrollaron cristaluria. Solo se presentó nefrotoxicidad a dosis mayores de las requeridas para producir cristaluria, es decir a dosis no terapéuticas (SCHLÜTER, 1987). Una cristaluria relacionada con la terapia de fluoroquinolonas se presenta raramente (ARCIERI et al., 1987; SCHACHT et al., 1988). Únicamente se ha podido constatar un caso de nefritis intersticial tras el tratamiento con ciprofloxacina (ARCIERI et al., 1986), así como el desarrollo de síntomas de nefritis intersticial (poliuria esteril, presencia de cilindros granulados y aumento de la creatinina plasmática) en pacientes fibrocísticos (STUTMAN, 1987).

Con respecto a los estudios de toxicidad subcrónica realizados con la enrofloxacin principalmente en ratas y en perros, se ha demostrado que el perro toleró dosis de 2000 mg/kg de pienso, lo que aproximadamente representa una dosis de 52 mg/kg peso vivo por día. A esta dosis en el perro no se observaron lesiones renales (cristalización intra-renal), ni a nivel oftalmológico aparición alguna de cataratas (ALTREUTHER, 1987). En ratas no se presentaron efectos teratógenos hasta la dosis máxima estudiada de 875 mg/kg. No obstante, en ratas tratadas con dosis de 210-875 mg/kg se observó un descenso de los pesos de los fetos, y a la dosis máxima de 875 mg/kg se observó

también una reducción del número de la camada (ALTREUTHER, 1987).

Las fluoroquinolonas producen resultados positivos en algunos sistemas de ensayo para mutagenicidad (SCHLUTER, 1986). Este efecto ha podido ser demostrado con todas las quinolonas disponibles actualmente, desde las primeras como el ácido nalidíxico a las más nuevas fluoroquinolonas como la ciprofloxacina, aunque no necesariamente en los mismos sistemas de ensayo. Las dificultades surgen en la interpretación de las investigaciones basadas en ensayos microbiológicos, tales como el test de Ames, ya que estos fármacos son tan efectivos sobre el organismo de ensayo, **Salmonella typhimurium**, que su actividad bactericida domina cualquier evidencia de mutagenicidad. Sin embargo, las fluoroquinolonas también dan resultados positivos en ensayos que detectan respuestas a lesión del DNA (por ejemplo, síntesis del DNA en hepatocitos de rata), en ensayos que detectan mutaciones genéticas (ejemplo, el sistema linfoma de ratón), y en aquellos que demuestran mutación cromosómica (ejemplo, ensayos de micronúcleo de ratón y dominancia letal) (SCHLUTER, 1986). No obstante, cuando se administra ciprofloxacina a ratas en comparación con un mutágeno conocido (acetilaminofluorina), no se ha podido demostrar efectos **in vivo** mutagénicos con la ciprofloxacina, sugiriéndose que los resultados positivos **in vitro** podrían ser originados por "un sistema artefacto" (McQUEEN y WILLIAMS, 1987). Igualmente ensayos evaluando índices de mutación basal del DNA de células eucarióticas tras la exposición a fluoroquinolonas no han demostrado ningún incremento (HUSSY et al., 1986), y ensayos crónicos de carcinogenicidad en ratas con

ciprofloxacina tampoco han demostrado ninguna evidencia de tumor (SCHLUTER, 1986). No existe evidencia clara en animales de mutagenicidad o carcinogenicidad por fluoroquinolonas (MELCION y CORDIERA, 1986).

El lugar diana de la actividad de las fluoroquinolonas sobre la subunidad A del DNA girasa bacteriano ha conducido a especular que estos agentes terapéuticos podrían afectar también adversamente la función de análogos de mamíferos, tipo topoisomerasas II. Observaciones sobre la síntesis del DNA tras exposición a concentraciones crecientes de fluoroquinolonas claramente demostraban que, si bien podía ser detectada una inhibición reversible de la DNA polimerasa de mamíferos y topoisomerasas I/II tras exposición a concentraciones del fármacos superiores a 50 $\mu\text{g/ml}$, ningún efecto pudo ser demostrado con las concentraciones terapéuticas que se alcanzan en el hombre y en los animales. Tampoco en experimentos en animales se ha podido demostrar efecto citotóxico sobre el crecimiento de linfocitos de timo de cordero con los niveles que se alcanzan terapéuticamente a nivel tisular. Las concentraciones requeridas para inhibir el 50 % del crecimiento fueron entre 100 y 300 μM para la ciprofloxacina, y fueron muchísimo menores por ejemplo para aquellos agentes citotóxicos tales como el cis-platino (0,6 μM) y melfalan (1 μM). Para la muerte celular se requirieron concentraciones superiores a 1000 $\mu\text{g/ml}$ para la ciprofloxacina (HUSSY et al., 1986). La Tabla 2 recoge los resultados tomados en la literatura por GOOTZ et al. (1990) sobre los efectos inhibitorios de los agentes antibacterianos quinolonas en

TABLA 2 . INHIBICION POR QUINOLONAS EN SISTEMAS DE ENSAYO EUCARITICOS.

ENSAYO	FARMACO (Concentracion Inhibitoria) ^a o (respuesta)
<u>In vitro</u> Topoisomerasa II <u>D. melanogaster</u> Timo de ternero Topoisomerasa I Timo de ternero DNA polimerasa α Síntesis de DNA no-catalogado Elución alcalina Progresión del ciclo celular Célula Linfoma de ratón	Acido nalidíxico (625) Acido oxolínico (340) Ofloxacina (1.300) ^b Norfloxacina (300) ^b Ciprofloxacina (150) ^b CP-67,015 (70) ^c Ciprofloxacina (400) Norfloxacina (300) Ofloxacina, ácido anlidíxico, Ciprofloxacina (1.000) Ciprofloxacina (positivo) Norfloxacina (positivo) Ofloxacina (positivo) Pefloxacina (positivo) Ciprofloxacina (10) Ofloxacina (80) Ciprofloxacina (20) Ciprofloxacina (positivo) ^d Norfloxacina (positivo) ^d Ofloxacina (positivo) ^d Pefloxacina (positivo) ^d CP-67,015 (100) ^d
<u>In vivo</u> Célula Médula ósea de ratón	CP-67,015 (500)

^aConcentraciones inhibitorias ($\mu\text{g/ml}$) para ensayos in vitro o como dosis eficaz (mg/kg) en animales para ensayos in vivo.

^bCI₅₀ en ensayos de catenación catalítica.

^cCI₅₀ en reacciones de ruptura del DNA.

^dRespuesta mutagénica positiva.

sistemas de ensayos eucarióticos.

La ciprofloxacina no origina cambios morfológicos o funcionales en testículos de rata, si bien la administración de otras fluoroquinolonas tales como pefloxacina o enoxacina a dosis superiores a 80-100 mg/kg/día pueden originar una atrofia testicular, defectuosa espermatogénesis, y en perros azoospermia (MAYER, 1987; SCHLUTER, 1987).

Es reconocido que las más nuevas fluoroquinolonas pueden presentar interacciones con otros fármacos. Se han realizado diversos estudios sobre las interacciones de diferentes fluoroquinolonas en especial con los derivados de las xantinas y sobre todo con la teofilina.

SARKAR et al. (1990) en un sistema *in vitro* de microsomas hepáticos humanos encuentra que la ciprofloxacina y la enoxacina bloquean selectivamente las dos N-demetilaciones de la teofilina e inhiben solo a altas concentraciones la hidroxilación. RUBISTEIN y SEGEV (1987) indican que el lugar de interacción entre la ciprofloxacina y la teofilina es el sistema enzimático citocromo P450. Aunque el mecanismo exacto de esta interacción no se conoce, se postula que los 4-oxo-metabolitos de los compuestos fluoroquinolonas, y no el compuesto padre, son los responsables directos de esta interacción (WIJNANDS et al., 1986). También se han sugerido interacciones a nivel renal en la secreción tubular activa para explicar la disminución observada en el aclaramiento de teofilina tras la administración de

fluoroquinolonas (SEGEV et al., 1987). Ensayos clínicos en los que se aprecia un aumento de los niveles séricos de teofilina tras la administración conjunta con ciprofloxacina son, entre otros, los descritos por HOLMES et al. (1985), NIX et al. (1986), WIJNANDS et al. (1986,1987), RAOOF et al. (1987) y SCHWARTZ et al. (1988).

También se ha demostrado una interacción similar en la coadministración de ciertas fluoroquinolonas y cafeína (HEALY et al., 1987,1989; STAIB et al., 1987; STILLE et al., 1987) y entre la fluoroquinolona enoxacina y la warfarina (TOON et al., 1987). Por otro lado, BARRIERE et al. (1989) también indican que la combinación ciprofloxacina y rifampicina origina una clara interacción farmacocinética; la rifampicina es un clásico inductor enzimático. Sin embargo CHANDLER et al. (1990) presentan esta combinación libre de cualquier interacción medicamentosa adversa.

La norfloxacinina parece tener menores interacciones en la administración conjunta con teofilina, no obstante a altas concentraciones también se presenta interacción adversa (NAKANISHI y OKUNO, 1990). Estos autores observaron que ratas tratadas con norfloxacinina a dosis de 300 mg/kg presentaban una vida media de eliminación de la teofilina mucho más prolongada, mientras que tratadas con dosis de norfloxacinina de 75 mg/kg no se apreciaba ninguna interacción sobre la farmacocinética de teofilina. Asimismo las fluoroquinolonas fleroxacinina, lomefloxacinina y ofloxacinina también parecen no originar

interacciones clínicamente significativas con la teofilina (JANKNEGT, 1990), aunque posteriores investigaciones se hacen necesarias para definir completamente este riesgo.

Lo que es claro es que las fluoroquinolonas, tales como ciprofloxacina, norfloxacina y enrofloxacina, sufren biotransformación vía sistema microsomal hepático citocromo P450 y por ello no es sorprendente de que el uso concomitante de estas quinolonas junto con otros fármacos que compiten por el mismo lugar de metabolismo conlleve a interacciones adversas manifestadas claramente en los estudios farmacocinéticos. LUDWIG et al. (1988) y TAN et al. (1989a) demuestran alteraciones farmacocinéticas del fármaco antipirina por ciprofloxacina. También, recientemente, ANADON et al. (1990c) demuestran en ratas que el tratamiento con ciprofloxacina afecta marcadamente la farmacocinética y el metabolismo del fármaco antipirina. La excreción urinaria de los metabolitos de la antipirina, norantipirina, 4-hidroxiantipirina y 3-hidroximetilantipirina, disminuyó en un 73 %, 43 % y 54 %, respectivamente, tras el tratamiento con ciprofloxacina, resultado que demuestra que la ciprofloxacina es capaz de inhibir el metabolismo oxidativo de fármacos.

Respecto a las interacciones entre fluoroquinolonas y compuestos antiácidos, u otros fármacos que afectan la absorción, existen investigaciones que demuestran que antiácidos conteniendo magnesio y/o aluminio e incluso hierro, pueden inhibir la absorción oral de ciprofloxacina y otras quinolonas en su

administración conjunta (HÖFFKEN et al., 1985b; BEERMAN et al., 1986; FLEMING et al., 1986; PREHEIM et al., 1986; GOLPER et al., 1987; RUBINSTEIN y SEGEV, 1987; HOFFKEN et al., 1988; BROUWERS et al., 1989; FROST et al., 1989; LODE et al., 1989; POLK et al., 1989). El mecanismo de esta interacción probablemente se encuentra en la formación de quelantes en el intestino.

Aunque los primeros datos sugerían que el carbonato cálcico no interfería con la absorción de fluoroquinolonas, algunos estudios han demostrado una disminución de la biodisponibilidad oral de ciprofloxacina y de norfloxacina por la administración conjunta con carbonato cálcico (0,5 - 1 g) (SAHAI et al. 1989; NIX et al., 1989). Por otro lado, la administración simultánea de carbón activado (1 g) apenas muestra efecto inhibitor sobre la absorción oral de ciprofloxacina (TORRE et al., 1989); no obstante, dosis de 20 a 40 g, sí modifican el aclaramiento corporal total de dicha fluoroquinolona (JAEHDE et al., 1989). Antagonistas de receptores histaminérgicos H₂ como la cimetidina y ranitidina tampoco tienen efecto significativo sobre la absorción de ciprofloxacina (RUBINSTEIN y SEGEV, 1987; HÖFFKEN et al., 1988).

También se han estudiado interacciones entre fluoroquinolonas y ciertos fármacos citostáticos, y se sugiere por los resultados obtenidos, aunque deben realizarse posteriores investigaciones, posibles reacciones adversas en el uso conjunto de fluoroquinolonas con compuestos tales como cis-platino, nitrosourea, nitrosoguanidina, melfalan y ciclosporina A (TAN et

al., 1986b; RUBINSTEIN y SEGEV, 1987; KRONBACH et al., 1988) y con doxorubicina y nitrofurantoina (KAPLOWITZ et al., 1986). Asimismo existen investigaciones que sugieren que fármacos antiinflamatorios no esteroides aumentan la toxicidad de las fluoroquinolonas sobre el SNC (BECKMAN et al., 1987; MORIKAWAK et al., 1987), e igualmente se han presentado casos de interacciones entre ciprofloxacina y fármacos tipo metoclopramida, midazolam y ciertos alcaloides como la morfina, codeína y atropina (RUBINSTEIN y SEGEV, 1987; ORKO et al., 1988; MORRAN et al., 1989).

Respecto a las interacciones por la combinación de ciprofloxacina y otros antimicrobianos, existen en la literatura varios estudios sobre sinergismo, antagonismo o no interacción. LEWIN y SMITH (1989) demostraron que la rifampicina (inhibidor de la síntesis del DNA bacteriano), tetraciclina, eritromicina, clindamicina y cloranfenicol (inhibidores de la síntesis proteica y del RNA bacteriano) antagonizaban la actividad bactericida de las 4-quinolonas.

Los aminoglucósidos, a diferencia de otros inhibidores de la síntesis de proteínas y del RNA, lesionan la membrana bacteriana (TANAKA 1982; DAVIS, 1987). Esto es un efecto adicional relacionado con la inhibición de la síntesis de proteínas, ya que la adición de cloranfenicol elimina la lesión de la membrana causada por la estreptomina (TANAKA, 1982; TAY y DAVIS, 1985). Se ha sugerido que esta lesión causada por los aminoglucósidos en la membrana bacteriana ofrece una explicación

para que estos fármacos sean bactericidas frente a **E. coli** en contraste al cloranfenicol, tetraciclina y eritromicina, que son meramente bacteriostáticos (TANAKA, 1982; TANAKA et al., 1984). El efecto de los aminoglucósidos sobre la membrana bacteriana parece ser propio provoque una interacción con las 4-quinolonas. Las alteraciones en la permeabilidad de la membrana pueden incrementar la captación de 4-quinolonas aumentando de este modo su actividad bactericida. Alternativamente, los aminoglucósidos pueden actuar vía efectos sobre la iniciación de la replicación del DNA, puesto que las 4-quinolonas también afectan la replicación del DNA. La observación de que concentraciones subinhibitorias de aminoglucósidos aumentan la actividad bactericida de las 4-quinolonas, pero no a la viceversa, sugiere que la primera hipótesis es la más probable, aunque son necesarias posteriores investigaciones para identificar el mecanismo por el cual los aminoglucósidos aumentan la actividad bactericida de las 4-quinolonas.

Otros investigadores también han demostrado sinergismo entre aminoglucósidos y la ciprofloxacina **in vitro** (CHALKLEY Y KOORNHOF, 1985). Es interesante indicar que combinaciones de algunos antagonistas de la pared celular y ciprofloxacina son sinérgicas frente a **P. aeruginosa** tanto **in vitro** como **in vivo** (CHALKLEY y KOORNHOF, 1985; BUSTAMANTE et al., 1987; FU et al., 1987; GIAMARELLOU y PETRIKKOS, 1987). De aquí, es posible que los antagonistas de la pared celular puedan, en algunos casos, actuar sinérgicamente con las 4-quinolonas, más bien que definir que la combinación sea aditiva o indiferente. Sin embargo, no se ha

descrito antagonismo de la actividad bactericida de las 4-quinolonas por los antagonistas de la pared celular.

1.8. Objetivos del trabajo

En la actualidad, las fluoroquinolonas ciprofloxacina, norfloxacina y enrofloxacin, todas ellas por su amplio espectro de actividad antimicrobiana, tienen un gran potencial terapéutico en el tratamiento de infecciones :

- infecciones sistémicas graves (septicemia, bacteremia, peritonitis)
- infecciones de las vías respiratorias (bronconeumonía, neumonía, bronquitis aguda y crónica, exacerbación aguda de fibrosis quística, bronquiectasia)
- infecciones gastrointestinales (diarrea infecciosa)
- infecciones de vías biliares (colangitis, colecistitis, epiema de la vesícula biliar)
- infecciones intra-abdominales (peritonitis, absesos intra-abdominales)
- infecciones osteoarticulares (osteomielitis, artritis séptica)
- infecciones de la piel y tejidos blandos (úlceras infectadas, infecciones de heridas, absesos, otitis externa, quemaduras infectadas)
- infecciones pélvicas (salpingitis, endometritis)
- infecciones otorrinolaringológicas (otitis media, sinusitis, mastoiditis, tonsilitis).

En medicina veterinaria, por el momento, es la enrofloxacin la fluoroquinolona de uso en práctica clínica recomendada para:

1) Aves : infecciones causadas por especies de **Mycoplasma**, **E. coli** (colisepticemia), **Salmonella**, **Haemophilus paragallinarum** (coriza contagiosa), **Pasteurella** (cólera), **Staphylococcus**, **Erysipelothrix**, infecciones mixtas (**Mycoplasma**, **E. coli**, entre otras), infecciones secundarias de animales infectados por virus.

2) Porcinos : infecciones por **E. coli** (colidiarrea, colienterotoxemia), por especies de **Salmonella**, **Pasteurella**, **Bordetella**, **Haemophilus**, **Mycoplasma**, complejos infecciosos como neumonía enzoótica (endémica), rinitis atrófica, síndrome MMA (mastitis-metritis-agalaxia).

3) Bovinos : infecciones por **E. coli** (colibacilosis, colisepticemia), especies de **Salmonella**, **Pasteurella**, **Mycoplasma**.

4) Ovinos/caprinos : infecciones por **E. coli**, especies de **Staphylococcus**, **Mycoplasma agalactiae**.

5) Caninos/felinos : infecciones bacterianas simples o mixtas de diversa localización como en sistemas digestivo, respiratorio, genitourinario, piel, conducto auditivo, heridas.

6) Contraindicada en équidos.

En base a los conocimientos y literatura científica existente para estas nuevas fluoroquinolonas se viene evidenciando que estos agentes antimicrobianos comparten propiedades inhibitoras enzimáticas, parecen inhibir el metabolismo oxidativo de otros fármacos administrados conjuntamente (NIX et al., 1986; WIJNANDS et al., 1986,1987; RAOOF et al., 1987; RUBISTEIN y SEGEV, 1987; STILLE et al., 1987;

HEALY et al., 1987, 1989; LUDWIG et al., 1988; SCHWARTZ et al., 1988; TAN et al., 1989a; ANADON et al., 1990c; NAKANISHI y OKUNO, 1990; SARKAR et al., 1990), efecto que puede suponer una interacción medicamentosa de significancia toxicológica (ANADON et al., 1989,1990a,1991). Es importante para evitar riesgos potenciales en el uso clínico de estas nuevas fluoroquinolonas un mayor conocimiento de su poder potencial inhibidor enzimático que nos permita establecer precauciones de uso así como las incompatibilidades con otros medicamentos.

El presente trabajo de investigación tiene como propósito proporcionar información complementaria aportando resultados de posibles efectos de inhibición enzimática por ciprofloxacina, norfloxacina y enrofloxacina. El estudio fué dirigido para examinar la influencia del tratamiento de dosis múltiples de ciprofloxacina, norfloxacina y enrofloxacina sobre la cinética de antipirina en perros.

La antipirina es probablemente, el fármaco modelo más ampliamente usado en investigaciones sobre la influencia de factores, ya sean genéticos, de enfermedad, ambientales y de fármacos, sobre el índice de actividad hepática metabolizante de fármacos (VESELL, 1972,1979; ANADON, 1983). La antipirina se metaboliza ampliamente en el organismo corporal al menos en cuatro metabolitos primarios y estos són excretados en forma conjugada en la orina (BRODIE y AXELROD, 1950; BATY y PRICE-EVANS, 1973; YOSHIMURA et al., 1968,1971). Los cuatro metabolitos identificados son : 4-hidroxi-antipirina, norantipirina,

3-hidroximetil-antipirina y 3-carboxi-antipirina. Existen datos en animales que indican que la producción de estos metabolitos está regulada por diferentes isoenzimas del citocromo P450 (DANHOFF et al., 1979b; RHODES y HOUSTON, 1983; TEUNISSEN et al., 1983a,b). Así, la primera aplicación de la antipirina fué para medir alteraciones en la capacidad de voluntarios normales para metabolizar fármacos tras la imposición de diversas condiciones. La clave importante de la investigación es que experimentalmente cada sujeto se utiliza como su propio control para establecer la capacidad enzimática metabolizante de fármacos individual, es decir un estado no-inducido ó no-inhibido (VESELL y PAGE, 1969).

Por lo tanto para evaluar posibles alteraciones surgidas en la capacidad de metabolización de fármacos, particularmente sobre el metabolismo oxidativo hepático, por el tratamiento de las fluoroquinolonas ciprofloxacina, norfloxacina y enrofloxacin en perros, nosotros hemos estudiado la cinética de la antipirina en estos animales antes y tras el tratamiento prolongado de estas fluoroquinolonas. De forma paralela hemos también evaluado las enzimas plasmáticas fosfatasa alcalina, aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa y gamma-glutamilttransferasa.

MATERIAL Y METODOS

2. MATERIAL Y METODOS

2.1. Protocolo experimental

Los ensayos fueron realizados en un total de 18 perros machos, sanos, mestizos de Pastor Aleman (fenotípicamente similares), con un rango de edad de 1 a 2 años y peso corporal de 20 kg a 32 kg. Todos los propietarios de estos animales fueron informados de los ensayos a realizar y dieron su conformidad o consentimiento por escrito para llevar a cabo las investigaciones presentadas en esta memoria.

Los perros utilizados en los ensayos fueron identificados con un estado de salud normal por exploración clínica (temperatura corporal, inspección de piel y anejos, inspección de mucosas conjuntival y bucal, frecuencia cardiaca, ganglios linfáticos retrofaringeos, preescapulares y poplíteos, auscultación del aparato respiratorio, palpación abdominal) y exámenes laboratoriales de bioquímica sanguínea. Los animales se aclimataron 5 días antes de los ensayos en el laboratorio de investigación del animalario con humedad y temperatura controladas (25°C, 45-65% humedad). Durante los experimentos, los perros se situaron en jaulas individuales específicas para perros y se alimentaron con un pienso comercial, alimento sólido extrusionado completo y equilibrado (Royal Canin, Club Croc) y agua *ad libitum*.

Los perros utilizados en esta investigación habían sido

vacunados a las 8 semanas de edad de moquillo, hepatitis vírica, leptospirosis y parvovirus (Tetradog MHPL, Rhône-Merieux), revacunados al mes siguiente de parvovirus (Parvodog P, Rhône-Merieux) y revacunados de nuevo a los 2 meses de la primera vacunación de moquillo, hepatitis vírica y leptospirosis (Caniffa MHL, Rhône-Merieux). Estos perros a la edad de 6 meses fueron vacunados de rabia (Imrab, Rhône-Merieux). Posteriormente, los animales han sido anualmente revacunados frente a todas estas enfermedades y frente a la tos de las perreras (Hexadog MHPLR, Rhône-Merieux), y desparasitados dos veces anualmente con dosis únicas de oxibendazol, 15 mg/kg, y niclosamida, 120 mg/kg (Vitaminthe, Virbac), y con praziquantel, 5 mg/kg (Droncit, Bayer). No obstante, se constató que al inicio de nuestros experimentos, estos perros no habían sido sometidos a ningún tipo de medicación durante un periodo de tiempo anterior de al menos 2 meses.

Los animales fueron divididos en tres grupos de 6 perros cada uno y se efectuaron 3 estudios cruzados:

- Grupo 1 : 6 perros identificados con las siglas OCP1, OCP2, OCP3, OCP4, OCP5 y OCP6, de peso corporal 25, 28, 32, 25, 25 y 30 kg, respectivamente, recibieron una dosis única de antipirina (20 mg/kg) por vía endovenosa en la vena cefálica. Tras la administración de antipirina se recogieron muestras sanguíneas seriadas a los periodos de tiempo de 15 min, 30 min, 1, 2, 3, 4, 6 y 8 horas. Las muestras sanguíneas fueron recogidas, previa inserción de una cánula permanente, en tubos

heparinizados. El plasma fué separado tras centrifugación y se almacenó a -20° C hasta el ensayo de la concentración de antipirina.

Seguidamente, estos animales fueron sometidos a un tratamiento con ciprofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg durante 10 días. La dosificación fué realizada vía oral con alimento, con los perros en ayunas (al menos de 12 horas). Un día después de la administración de la última dosis de ciprofloxacina los 6 perros, ahora identificados manteniendo el mismo orden como 1CP1, 1CP2, 1CP3, 1CP4, 1CP5 y 1CP6, respectivamente, recibieron de nuevo una dosis única de antipirina de 20 mg/kg, i.v. Seguidamente, en estos perros se recogieron muestras sanguíneas seriadas, y se procedió de la misma manera descrita anteriormente a fin de evaluar la concentración plasmática de antipirina.

Los 6 perros del Grupo 1 fueron sometidos, antes y tras el tratamiento con ciprofloxacina, a una analítica bioquímica sanguínea determinándose las medidas o parámetros siguientes : actividad de las enzimas fosfatasa alcalina, aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), gamma-glutamilttransferasa (γ -GT), y concentración de urea, bilirrubina total y creatinina.

- Grupo 2 : 6 perros identificados con las siglas 0ENR1, 0ENR2, 0ENR3, 0ENR4, 0ENR5 y 0ENR6, de peso corporal 29, 27, 20, 25, 28 y 25 kg, respectivamente, recibieron una dosis única de antipirina (20 mg/kg) por vía endovenosa en la vena cefálica.

Tras el tratamiento de antipirina se recogieron muestras sanguíneas seriadas a los periodos de tiempo de 15 min, 30 min, 1, 2, 3, 4, 6 y 8 horas, como previamente se describió en el Grupo 1, a fin de evaluar la concentración plasmática de antipirina.

Seguidamente, estos animales fueron sometidos a un tratamiento con enrofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg durante 10 días. La dosificación fué realizada vía oral con alimento, con los perros en ayunas (al menos de 12 horas). Un día después de la última dosis de enrofloxacina, los perros ahora identificados manteniendo el mismo orden como 1ENR1, 1ENR2, 1ENR3, 1ENR4, 1ENR5 y 1 ENR6, respectivamente, recibieron, de nuevo, una dosis única de antipirina de 20 mg/kg, i.v. Seguidamente, en estos perros se recogieron muestras sanguíneas seriadas y se procedió de la misma manera descrita anteriormente en el Grupo 1, a fin de evaluar la concentración plasmática de antipirina.

Los 6 perros del Grupo 2 fueron sometidos, antes y tras el tratamiento con enrofloxacina, a una analítica bioquímica sanguínea determinándose los parámetros sanguíneos siguientes : actividad de las enzimas fosfatasa alcalina, AST, ALT, γ -GT, y concentración de urea, bilirrubina total y creatinina.

- Grupo 3 : 6 perros identificados con las siglas 0NOR1, 0NOR2, 0NOR3, 0NOR4, 0NOR5 y 0NOR6 de peso corporal 25, 22, 23, 25, 23 y 24 kg, respectivamente, recibieron una dosis única de antipirina (20 mg/kg) por vía endovenosa en la vena cefálica.

Tras el tratamiento de antipirina se recogieron muestras sanguíneas seriadas a los periodos de tiempo de 15 min, 30 min, 1, 2, 3, 4, 6 y 8 horas, como previamente se describió en el Grupo 1, a fin de evaluar la concentración plasmática de antipirina.

Seguidamente, estos animales fueron sometidos a un tratamiento con norfloxacin, dosis orales de 10 mg/kg durante 10 días. La dosificación fué realizada vía oral con alimento, con los perros en ayunas (al menos de 12 horas). Un día después de la última dosis de norfloxacin, los 6 perros ahora identificados manteniendo el mismo orden como 1NOR1, 1NOR2, 1NOR3, 1NOR4, 1NOR5 y 1NOR6, respectivamente, recibieron, de nuevo, una dosis única de antipirina de 20 mg/kg, i.v. Seguidamente, en estos perros se recogieron muestras sanguíneas y se procedió de la misma manera descrita anteriormente en el Grupo 1, a fin de evaluar la concentración plasmática de antipirina.

Los 6 perros del Grupo 3 fueron sometidos, antes y tras el tratamiento con norfloxacin, a una analítica bioquímica sanguínea determinandose los parámetros siguientes : actividad de las enzimas fosfatasa alcalina, AST, ALT, γ -GT, y concentración de urea, bilirrubina total y creatinina.

2.2. Ensayos laboratoriales de bioquímica clínica

En los tres estudios cruzados, los perros de los 3 Grupos fueron sometidos a las medidas sanguíneas, antes y tras el tratamiento con las fluoroquinolonas ciprofloxacina, enrofloxacina y norfloxacina, siguientes : medidas enzimáticas de fosfatasa alcalina, aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y gamma-glutamilttransferasa (γ -GT), y concentración de urea, bilirrubina total y creatinina, por métodos espectrofotométricos usando sustratos reactivos comerciales (BioSystems S.A.), kits específicos para cada parámetro a estudio, por medio de un sistema Analizador Químico automático Biotecnica Instruments model ARCO BT-2245, equipado con grupo óptico UV/VIS, paso de banda < 8 nm, precisión fotométrica $\pm 1\%$ de 0 a 2,5 D.O., linealidad fotométrica $> 1\%$, bomba peristáltica de volumen de aspiración programable, impresora de monitorización automática, placa rotatoria para muestras y standards, diluidor automático, sistema de datos con calibración automática y memoria de programas.

A cada uno de los perros sometidos a estudio se les extrajo una muestra de sangre, se recoge en tubo heparinizado y se aísla el plasma tras centrifugación. El plasma (0,1 - 0,2 ml) se somete a los análisis anteriormente indicados.

2.3. Ensayo analítico de antipirina

Para analizar cuantitativamente la antipirina en plasma se han descrito diversos métodos en la literatura. En principio se utilizaron ensayos espectrofotométricos como los descritos por BRODIE et al. (1949) y por SCHÜPPEL (1968), pero estos métodos tienen pobre reproductibilidad. Se han descrito posteriormente otros ensayos por cromatografía gas-líquido para determinar antipirina en fluidos biológicos con una mayor selectividad y con un límite de detección de 0,5 - 2,0 $\mu\text{g/ml}$ (PRESCOTT et al., 1973; HUFFMAN, et al., 1974; LINDGREN et al., 1974; VAN BOXTEL et al., 1976; BRINKMAN y HENGSTMANN, 1976; MEFFIN et al., 1977; TSCHANZ et al., 1977). Además de estos ensayos descritos también se han publicado otros métodos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y por radioinmunoensayo (WELCH et al., 1975; EICHELBAUM y SPANNBRUCKER, 1978; DANHOF et al., 1979a).

Una vez estudiados los métodos disponibles en la literatura, para el presente trabajo de investigación hemos elegido el método por HPLC para el análisis de antipirina descrito por DANHOFF et al. (1979a) por sus mejores coeficientes de selectividad, variación, y límite de detección (10 ng/ml). Utilizando este método, la

determinación cuantitativa de antipirina en plasma es muy sensible y rápida, alta reproductibilidad, con buena precisión en el rango de concentración lineal de 0,01 - 20,0 µg/ml, las desviaciones standard no exceden de $\pm 3,6$ % , sin existir ninguna interferencia entre la antipirina inalterada y sus metabolitos, ni tampoco entre las fluoroquinolonas a estudio ni con ninguno de los constituyentes endógenos presentes en el plasma (es decir ninguna sustancia interferente es co-extraída).

El procedimiento seguido fué el siguiente :

a cada una de las muestras de plasma (1 ml) se le añadió 0,1 ml de hidróxido sódico 2 N. Tras su mezclado, a continuación, la muestra fué extraída dos veces con 5 ml de una mezcla de diclorometano/pentano a volúmenes iguales, (1:1). Se agitó vigorosamente en tubo cerrado con tapon por medio de un agitador Heidolp Reax 2000 durante 1 minuto y seguidamente se centrifugó a 4.000 rpm en centrífuga Sorwall, modelo RC-5b, durante 10 minutos. Las fases orgánicas de cada muestra separadas por la centrifugación (la capa orgánica corresponde con la capa de la parte superior) se recogieron juntas combinadas y se evaporó a sequedad a 40° C bajo corriente de nitrógeno. Finalmente, el residuo se disolvió en 0,5 ml del eluyente o fase móvil, y una alícuota de 20 µl se inyecta en el HPLC.

El sistema cromatográfico líquido de alta presión utilizado fué un Shimadzu, modelo L-6A, equipado con detector espectrofotométrico ultravioleta de longitud de onda variable, Shimadzu, modelo SPD-6A, un procesador de datos Shimadzu, Chromatopac C-R6A, y una columna cromatográfica (Merck) Lichrosorb RP-2 con un tamaño de partícula de 5 μm (4 x 150 mm).

El eluyente o fase móvil consistió en una solución de 5% de acetonitrilo en buffer fosfato 0,05 M (pH 6,5). El flujo fué seleccionado a 1,5 ml/min, y la detección se realizó a una longitud de onda de 244 nm.

El método del standard externo fué empleado para la cuantificación de la antipirina. Para el plasma, las curvas standard fueron lineales de 0,01 a 20 μg de antipirina/ml, con coeficientes de variación intra e interdia por debajo de 3,6% . El límite de detección de antipirina fue 0,01 $\mu\text{g}/\text{ml}$. La recuperación de antipirina en plasma fué mayor de un 99% .

2.4 Análisis de datos

Los datos de las concentraciones plasmáticas de antipirina, obtenidos tras administración i.v. de dosis únicas de 20 mg/kg en cada uno de los animales, fueron fijados mediante computador usando el programa no lineal de mínimos cuadrados ELSFIT (SHEINER, 1981) para su análisis cinético. Las curvas de las concentraciones plasmáticas de antipirina VS tiempo fueron fijadas a un modelo bicompartimental para el análisis cinético. Las curvas de las concentraciones plasmáticas de antipirina VS tiempo declinaron exponencialmente y los datos se fijaron a la siguiente ecuación exponencial (BAGGOT, 1977; WAGNER, 1975,1976) :

$$C_p = A_1 \cdot e^{-\alpha t} + A_2 \cdot e^{-\beta t}$$

Esta ecuación fué elegida usando el método estadístico denominado "estimación mínima del Criterio de Información de Akaike" (YAMAOKA et al., 1978).

El modelo bicompartimental considera el organismo dividido en dos compartimientos :

- 1) El plasma, los fluídos intersticiales y el agua

intracelular asequible (tejidos bien irrigados) formarían un compartimiento muy bien caracterizado cineticamente denominado compartimiento central (compartimiento nº 1). Por definición, la distribución del medicamento en todos sus elementos sería instantánea, y su concentración uniforme e igual a la existente en el plasma.

2) El agua intracelular profunda (tejidos poco vascularizados) y los depósitos no acuosos (proteínas, ácidos nucleicos y lípidos intracelulares) se agruparían en un compartimiento periférico (compartimiento nº 2) al que el medicamento accedería más lentamente desde el plasma, de modo que transcurriría un tiempo variable antes de la consecución del equilibrio del medicamento en el total del organismo.

En el seno del compartimiento central se materializarían los procesos de eliminación del medicamento por metabolismo y excreción, regidos por una constante de eliminación (K_{10}). Este compartimiento canalizaría además el proceso de distribución del medicamento al compartimiento periférico, regido por la constante de distribución (K_{12}), y, en el caso de que la administración fuera extravasal, también el proceso de absorción, gobernado por una constante de absorción (K_a).

En el compartimiento periférico, desprovisto de mecanismos metabólicos y excretores de importancia, el medicamento permanece depositado pasivamente, y su retorno al plasma (regido por la constante de retorno K_{21}) depende del grado de eliminación en el compartimiento central y de la afinidad que el medicamento presente hacia los depósitos no acuosos.

Aunque la velocidad de acceso del medicamento a los diferentes elementos del compartimiento periférico no es la misma y la velocidad de salida tampoco lo es, en la práctica los retardos en la distribución y en el retorno se consideran aditivos y están cuantificados globalmente por las constantes K_{12} y K_{21} . Del mismo modo, la constante de absorción (K_a) engloba a las de liberación y absorción, y la constante de eliminación (K_{10}) engloba a las de metabolismo y excreción.

Los procesos de absorción, distribución y eliminación asociados con éste modelo se asume obedecen cinéticas de orden uno, es decir, la velocidad en que un fármaco se absorbe y se elimina a partir del compartimiento central, es proporcional a la concentración del fármaco en dicho compartimiento.

La curva de disposición que expresa como la concentración plasmática de la antipirina desciende en función del tiempo, en un modelo bicompartimental, tras dosis i.v. se describe matemáticamente por la expresión exponencial (Figura 3) :

$$C_p = A_1 \cdot e^{-\alpha t} + A_2 \cdot e^{-\beta t}$$

donde C_p es la concentración de antipirina en plasma a tiempo t , A_1 y A_2 son coeficientes matemáticos de "intersección" con la concentración, concentraciones de antipirina extrapoladas a tiempo cero, y α y β son las constantes híbridas de la fase de distribución global y de la fase terminal de eliminación, respectivamente, y "e" representa la base del logaritmo natural. El perfil concentración-tiempo (Figura 3) presentado en forma semilogarítmica demuestra una curva con dos porciones o fases, la primera principalmente se debe a una distribución (por difusión pasiva) de la antipirina desde el compartimiento central al compartimiento periférico. Una vez se ha alcanzado un equilibrio de pseudo-distribución, la velocidad de eliminación de la concentración plasmática de antipirina se reduce y viene determinada principalmente por la eliminación de la antipirina del compartimiento central. Esta porción terminal lineal de la curva de

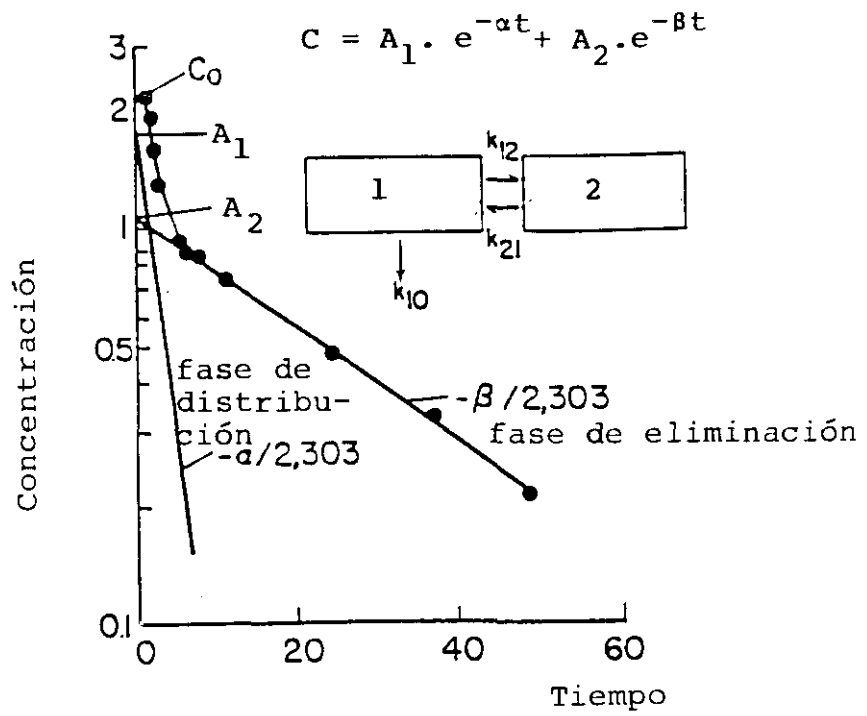


FIGURA 3. DIAGRAMA DE MODELO ABIERTO BICOMPARTIMENTAL. PERFIL CONCENTRACION PLASMATICA VS TIEMPO DE UN FARMACO TRAS ADMINISTRACION I.V. EN DONDE QUEDAN DESCRITAS LAS FASES DE DISTRIBUCION Y DE ELIMINACION.

disposición se denomina apropiadamente "fase de eliminación" y a partir de su pendiente ($-\beta/2,2303$) se deriva la vida media de eliminación ($t_{1/2\beta}$) o semiperiodo biológico del fármaco. Resolviendo la curva de disposición en sus componentes por el método de residuales, se obtiene el segmento lineal denominado "fase de distribución" (GIBALDI et al., 1969).

En los estudios de disposición, los coeficientes A_1 y A_2 y las constantes de velocidad α y β se calculan a partir de los datos experimentales por análisis de regresión no lineal por mínimos cuadrados. Las constantes experimentales A_1 , A_2 , α y β se usan para calcular las constantes farmacocinéticas K_{12} , K_{21} y K_{10} que están asociadas con el modelo bicompartimental.

Los parámetros farmacocinéticos investigados tras administración i.v. de antipirina fueron :

- A_1 y A_2 , concentraciones del fármaco extrapoladas a tiempo cero.
- α y β , constantes de disposición. ambas son constantes híbridas y gobiernan en conjunto los procesos de distribución del medicamento al compartimiento periférico, de retorno al central y de eliminación del

mismo por biotransformación y excreción.

- $t_{1/2\alpha}$ y $t_{1/2\beta}$, vidas medias o semiperiodos plasmáticos para la fase inicial- α de distribución y para la fase terminal- β de eliminación del proceso, respectivamente.

$$t_{1/2\alpha} = 0,693/\alpha$$

$$t_{1/2\beta} = 0,693/\beta$$

- AUC, area bajo la curva de niveles plasmáticos

$$AUC = (A_1/\alpha) + (A_2/\beta)$$

- V_c , volumen aparente de distribución del compartimiento central

$$V_c = \text{Dosis}/(A_1 + A_2)$$

- V_β , volumen de distribución en fase- β

$$V_\beta = \text{Dosis}/(\beta \cdot AUC)$$

- V_{ss} , volumen de distribución en el estado estacionario

$$V_{ss} = MRT \cdot CL$$

- K_{12} , constante de distribución desde el compartimiento central al compartimiento periférico

$$K_{12} = \alpha + \beta - K_{21} - K_{10}$$

- K_{21} , constante de distribución desde el compartimiento periférico al compartimiento central

$$K_{21} = (A_1 \cdot \beta + A_2 \cdot \alpha) / (A_1 + A_2)$$

- K_{10} , constante de eliminación

$$K_{10} = (\alpha \cdot \beta) / K_{21}$$

- MRT, tiempo medio de residencia de disposición

$$MRT = [(A_1/\alpha^2) + (A_2/\beta^2)] / AUC$$

- VRT, varianza en el tiempo de residencia

$$VRT = 2 \cdot [(A_1/\alpha^2) + (A_2/\beta^2)] / AUC - MRT^2$$

- Cl, aclaramiento o "clearance" plasmático total

$$Cl = Dosis / AUC$$

El test t de Student fué utilizado para evaluar las diferencias estadísticas entre los valores de las enzimas plasmáticas a estudio antes y tras el tratamiento con fluoroquinolonas, así como también en la farmacocinética de antipirina. Las diferencias se consideraron significativas únicamente si $P < 0,05$. Todos los valores han sido expresados como : valor medio \pm el error standard de la media (ESM).

2.5. Fármacos y reactivos

- Acetonitrilo ($\text{CH}_3\text{-CN}$) (Scharlau, grado HPLC)
- Antipirina ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$) (Sigma)
- Alanina aminotransferasa Reactivo A (Tris-hidroximetilaminometano 110 mmol/litro, L-alanina 550 mmol/litro, pH 7,3) (Biosystems)
- Alanina aminotransferasa Reactivo B (2-oxoglutarato 16,5 mmol/litro, NADH 0,2 mmol/litro, lactato deshidrogenasa > 1350 U/litro) (Biosystems)
- Aspartato/alanina aminotransferasa Reactivo C (Fosfato de piridoxal 5 mmol/litro) (Biosystems)
- Aspartato aminotransferasa Reactivo A (Tris-hidroximetilaminometano 88 mmol/litro, L-aspartato 264 mmol/litro, pH 7,8) (Biosystems)
- Aspartato aminotransferasa Reactivo B (2-oxoglutarato 13,2 mmol/litro, NADH 0,2 mmol/litro, malato deshidrogenasa > 460 U/litro, lactato deshidrogenasa 660 U/litro) (Biosystems)
- Bilirrubina Reactivo A-T (ácido sulfanílico 29 mmol/litro, ácido clorhídrico 0,42 mol/litro, dimetilsulfóxido 5,6 mol/litro) (Biosystems)
- Bilirrubina Reactivo B (nitrito sódico 58 mmol/litro) (biosystems)
- Bilirrubina, standard de referencia (Biosystems)

- Ciprofloxacina ($C_{17}H_{18}FN_3O_3$) (Bayer) (Baycip, comprimidos 250 mg)
- Creatinina Reactivo A (ácido pícrico 25 mmol/litro) (Biosystems)
- Creatinina Reactivo B (hidróxido sódico 0,2 mol/litro) (Biosystems)
- Glucosa/urea/creatinina, standard de referencia (Biosystems)
- Enrofloxacin (Bayer) (Baytril, tabletas 50 mg)
- Diclorometano (Cl_2CH_2) (Merck)
- Fosfato sódico dibásico ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) (Merck)
- Fosfato monobásico ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$) (Merck)
- Fosfatasa alcalina (AMP) Reactivo A (2-amino-2-metil-1-propanol 0,35 mol/litro, acetato de magnesio 2 mmol/litro, sulfato de zinc 1 mmol/litro, ácido N-hidroxi-etil-etilenodiaminotriacético 2 mmol/litro, pH 10,4) (Biosystems)
- Fosfatasa alcalina (AMP) Reactivo B (4-nitrofenil-fosfato 0,24 mmol/comprimido) (Biosystems)
- Gamma-glutamilttransferasa Reactivo B (Gamma-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida 6,6 mmol/litro) (Biosystems)
- Hidróxido sódico (NaOH) (Merck)
- Norfloxacina ($C_{16}H_{18}N_3O_3F$) (Merck Sharp & Dohme) (Noroxin, tabletas 400 mg)
- Pentano (C_5H_{12}) (Merck)

- Urea (UV) Reactivo A (Tris 100 mmol/litro, 2-oxoglutarato 5 mmol/litro, pH 8,0) (Biosystems)
- Urea (UV) Reactivo B (NADH 14 mmol/litro) (Biosystems)
- Urea (UV) Reactivo C (Ureasa > 700 U/ml, glutamato deshidrogenasa > 700 U/ml) (Biosystems)

Baycip (comprimidos 250 mg) y Baytril (tabletas 50 mg) fueron donados por Química Farmacéutica Bayer, S.A., Barcelona, España, a través de los Doctores J. Bigorra y E. Rierola.

RESULTADOS

3. RESULTADOS

3.1. Tolerancia de las fluoroquinolonas y parámetros plasmáticos laboratoriales

Dosis diarias orales de 30 mg/kg de ciprofloxacina y enrofloxacin, y de 10 mg/kg de norfloxacina, durante 10 días, fueron bien toleradas por los perros. Tras 10 días de tratamiento no se observó en ninguno de los animales signos de intolerancia tales como salivación, vómito, o diarrea.

Los parámetros plasmáticos laboratoriales no demostraron diferencias clínicamente importantes entre los valores encontrados antes y tras el tratamiento con las fluoroquinolonas a estudio. Todos los datos estuvieron dentro del rango normal, excepto los valores de las enzimas, fosfatasa alcalina, AST, ALT y γ -GT, en las que según los tratamientos realizados, se observó una disminución de la actividad enzimática. Principalmente, las actividades encontradas para la enzima γ -GT de < 1 U/litro, tras el tratamiento con ciprofloxacina y enrofloxacin, podrían indicar en estos casos una función hepática alterada. Los datos laboratoriales plasmáticos obtenidos antes y tras el tratamiento con ciprofloxacina (dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días) se expresan en las Tablas 3, 4, y 5 ; antes y tras el tratamiento con enrofloxacin (dosis orales de

30 mg/kg/día, 10 días) en las Tablas 6, 7 y 8 ; y antes y tras el tratamiento con norfloxacin (dosis orales de 10 mg/kg/día, 10 días) en las Tablas 9, 10 y 11.

3.2. Farmacocinética de antipirina

3.2.1. Farmacocinética de antipirina en plasma antes y tras el tratamiento con ciprofloxacina

Los niveles plasmáticos de antipirina frente al tiempo antes y tras el tratamiento con ciprofloxacina (dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días) quedan expresados en las Tablas 12 y 13, y en la Figura 4.

Las concentraciones de antipirina en plasma tras su administración intravenosa (dosis única de 20 mg/kg) en los perros antes y tras el tratamiento con la fluoroquinolona ciprofloxacina fueron ajustadas adecuadamente a un modelo abierto bicompartimental para su análisis cinético. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos, usando el programa de regresión no lineal de mínimos cuadrados ELSFIT, se expresan en las Tablas 14 y 15.

Los valores medios de los parámetros farmacocinéticos, vida media de eliminación ($t_{1/2\beta}$), area bajo la curva (AUC), aclaramiento plasmático total (Cl), tiempo medio de residencia (MRT), volumen de distribución en fase- β (V_{β}) y volumen de distribución en el estado estacionario (V_{ss}) difirieron significativamente tras el tratamiento con ciprofloxacina (Tabla 16). La $t_{1/2\beta}$, el AUC y el MRT, en los perros tratados con ciprofloxacina, aumentaron significativamente desde valores antes del tratamiento de 1,81 a 2,67 h ; de 75,46 a 86,17 mg.h/l ; y de 2,34 a 3,23 h tras el tratamiento, respectivamente (Tabla 16).

3.2.2. Farmacocinética de antipirina en plasma antes y tras el tratamiento con enrofloxacina

Los niveles plasmáticos de antipirina frente al tiempo antes y tras el tratamiento con enrofloxacina (dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días) quedan expresados en las Tablas 17 y 18, y en la Figura 5.

Las concentraciones de antipirina en plasma tras su administración intravenosa (dosis única de 20 mg/kg) en los perros antes y tras el tratamiento con la fluoroquinolona enrofloxacina fueron ajustadas adecuadamente a un modelo abierto bicompartimental para su análisis cinético. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos, usando el programa de regresión no lineal de mínimos cuadrados ELSFIT, se expresan en las Tablas 19 y 20.

Los valores medios de los parámetros farmacocinéticos, vida media de eliminación ($t_{1/2\beta}$), area bajo la curva (AUC), aclaramiento plasmático total (Cl), tiempo medio de residencia (MRT), volumen de distribución en fase- β ($V\beta$) y volumen de distribución en el estado estacionario (V_{ss}) difirieron significativamente tras el tratamiento con enrofloxacin (Tabla 21). La $t_{1/2\beta}$, el AUC y el MRT, en los perros tratados con enrofloxacin, aumentaron significativamente desde valores antes del tratamiento de 1,84 a 2,88 h ; de 77,42 a 103,11 mg.h/l ; y de 2,37 a 3,73 h tras el tratamiento, respectivamente (Tabla 21).

3.2.3. Farmacocinética de antipirina en plasma antes y tras el tratamiento con norfloxacin

Los niveles plasmáticos de antipirina frente al tiempo antes y tras el tratamiento con norfloxacin (dosis orales de 10 mg/kg/día, 10 días) quedan expresados en las Tablas 22 y 23, y en la Figura 6.

Las concentraciones de antipirina en plasma tras su administración intravenosa (dosis única de 20 mg/kg) en los perros antes y tras el tratamiento con la fluoroquinolona norfloxacin fueron ajustadas adecuadamente a un modelo abierto bicompartimental para su análisis cinético. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos, usando el programa de regresión no lineal de mínimos cuadrados ELSFIT, se expresan en las Tablas 24 y 25.

Los valores medios de los parámetros farmacocinéticos, vida media de eliminación ($t_{1/2\beta}$), area bajo la curva (AUC), aclaramiento plasmático total (CL), y tiempo medio de residencia (MRT) difirieron significativamente tras el tratamiento con norfloxacin (Tabla 26). La $t_{1/2\beta}$, el AUC y el MRT, en los perros tratados con norfloxacin, aumentaron significativamente desde valores antes del tratamiento de 1,71 a 2,26 h ; de 65,57 a 80,96 mg.h/l ; y de 2,17 a 2,91 h tras el tratamiento, respectivamente (Tabla 21).

Tabla 3 . Parámetros bioquímicos sanguíneos en perros **antes del tratamiento** con ciprofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	P E R R O S (n = 6)						Media ± ESM
	OCP1	OCP2	OCP3	OCP4	OCP5	OCP6	
Fosfatasa alcalina (U/litro)	49,1	32,1	69,2	38,2	38,1	54,5	46,8 ± 5,6
AST (U/litro)	25,1	41,6	29,7	28,1	24,4	30,8	29,9 ± 2,5
ALT (U/litro)	40,1	36,2	45,7	49,8	29,6	45,2	41,1 ± 3,0
γ -GT (U/litro)	5,5	3,8	4,2	2,2	3,2	2,8	3,6 ± 0,5
Urea (mg/100 ml)	31,5	34,2	29,8	32,3	25,2	33,4	31,1 ± 1,3
Bilirrubina total (mg/100 ml)	0,36	0,28	0,28	0,42	0,35	0,39	0,34 ± 0,02
Creatinina (mg/100 ml)	0,81	0,87	0,78	0,68	0,96	1,0	0,85 ± 0,05

Tabla 4 . Parámetros bioquímicos sanguíneos en perros **tras el tratamiento** con ciprofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	P E R R O S (n = 6)						Media ± ESM
	1CP1	1CP2	1CP3	1CP4	1CP5	1CP6	
Fosfatasa alcalina (U/litro)	19,1	25,4	35,8	20,7	21,2	31,1	25,5 ± 2,7
AST (U/litro)	19,7	32,4	17,2	15,1	20,2	22,3	21,1 ± 2,5
ALT (U/litro)	15,8	14,9	23,8	18,7	38,1	28,1	23,2 ± 3,6
γ-GT (U/litro)	1,0	1,2	1,7	0,15	1,4	0,17	0,94 ± 0,27
Urea (mg/100 ml)	30,3	39,2	29,6	32,4	28,6	44,5	34,1 ± 2,6
Bilirrubina total (mg/100 ml)	0,41	0,21	0,40	0,38	0,32	0,38	0,35 ± 0,03
Creatinina (mg/100 ml)	0,68	0,76	0,92	0,71	0,96	1,0	0,83 ± 0,05

Tabla 5 . Parámetros bioquímicos sanguíneos en perros **antes y tras el tratamiento con diprofloxacina**, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	Valores de referencia ^a medio - máximo (mínimo)	Antes del tratamiento	Después del tratamiento
Fosfatasa alcalina (U/litro)	30 - 160	46,8 ± 5,6	25,5 ± 2,7**
AST (U/litro)	25 - 50	29,9 ± 2,5	21,1 ± 2,5*
ALT (U/litro)	40 - 74	41,1 ± 3,0	23,2 ± 3,6**
γ-GT (U/litro)	2 - 6	3,6 ± 0,5	0,94 ± 0,27***
Urea (mg/100 ml)	39 - 50 (15)	31,2 ± 1,3	34,1 ± 2,6
Bilirrubina total (mg/100 ml)	0,1 - 0,4	0,34 ± 0,02	0,35 ± 0,03
Creatinina (mg/100 ml)	0,07 - 1	0,85 ± 0,05	0,83 ± 0,05

^aNIEMAN y SUTER (1992)

Valores medios ± ESM ; * P < 0,05 ; ** P < 0,01 ; *** P < 0,001

Tabla 6. Parámetros bioquímicos sanguíneos en perros **antes del tratamiento** con enrofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	P E R R O S (n = 6)						Media ± ESM
	0ENR1	0ENR2	0ENR3	0ENR4	0ENR5	0ENR6	
Fosfatasa alcalina (U/litro)	63,7	43,8	37,5	56,4	22,9	33,8	43,0 ± 6,1
AST (U/litro)	48,9	23,4	20,1	39,7	22,1	40,6	32,4 ± 4,9
ALT (U/litro)	58,2	41,2	30,7	45,6	50,1	33,8	43,2 ± 4,2
γ -GT (U/litro)	4,7	3,8	2,7	3,2	1,9	2,9	3,2 ± 0,4
Urea (mg/100 ml)	28,7	33,4	39,1	41,7	31,8	20,7	32,5 ± 3,1
Bilirrubina total (mg/100 ml)	0,28	0,40	0,33	0,36	0,22	0,18	0,29 ± 0,03
Creatinina (mg/100 ml)	0,60	0,68	0,81	0,32	0,92	1,0	0,72 ± 0,09

Tabla 7 . Parámetros bioquímicos sanguíneos en perros **tras el tratamiento** con enrofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	P E R R O S (n = 6)						Media ± ESM
	1ENR1	1ENR2	1ENR3	1ENR4	1ENR5	1ENR6	
Fosfatasa alcalina (U/litro)	30,1	23,2	18,2	20,3	14,1	16,2	20,3 ± 2,3
AST (U/litro)	17,1	16,2	12,3	33,8	20,1	17,0	19,4 ± 3,0
ALT (U/litro)	22,0	23,1	18,2	20,8	17,1	16,0	19,5 ± 1,2
γ -GT (U/litro)	1,1	0,87	0,49	1,2	0,36	1,1	0,85 ± 0,14
Urea (mg/100 ml)	30,2	30,7	31,8	28,2	20,3	36,1	29,5 ± 2,1
Bilirrubina total (mg/100 ml)	0,27	0,33	0,36	0,38	0,19	0,16	0,28 ± 0,03
Creatinina (mg/100 ml)	0,72	0,78	0,68	0,42	0,96	1,0	0,76 ± 0,08

Tabla 8 . Parámetros bioquímicos sanguíneos en perros **antes y tras el tratamiento con enrofloxacina**, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	Valores de referencia ^a medio - máximo (mínimo)	Antes del tratamiento	Después del tratamiento
Fosfatasa alcalina (U/litro)	30 - 160	43,0 ± 6,1	20,3 ± 2,3*
AST (U/litro)	25 - 50	32,4 ± 4,9	19,4 ± 3,0*
ALT (U/litro)	40 - 74	43,2 ± 4,2	19,5 ± 1,2**
γ -GT (U/litro)	2 - 6	3,2 ± 0,4	0,85 ± 0,14***
Urea (mg/100 ml)	39 - 50 (15)	32,5 ± 3,1	29,5 ± 2,1
Bilirrubina total (mg/100 ml)	0,1 - 0,4	0,29 ± 0,03	0,28 ± 0,03
Creatinina (mg/100 ml)	0,07 - 1	0,72 ± 0,09	0,76 ± 0,08

^aNIEMAN y SUTER (1992)

Valores medios ± ESM ; * P < 0,05 ; ** P < 0,01 ; *** P < 0,001

Tabla 9 . Parámetros bioquímicos sanguíneos en perros **antes del tratamiento** con norfloxacin, dosis orales de 10 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	P E R R O S (n = 6)						Media ± ESM
	ONOR1	ONOR2	ONOR3	ONOR4	ONOR5	ONOR6	
Fosfatasa alcalina (U/litro)	52,1	38,2	47,1	64,2	30,8	33,5	44,3 ± 5,2
AST (U/litro)	23,7	49,2	43,4	38,7	20,9	40,8	36,1 ± 4,6
ALT (U/litro)	53,8	36,8	33,7	62,4	29,2	46,7	43,7 ± 5,2
γ -GT (U/litro)	5,7	4,8	1,9	5,9	2,1	1,7	3,6 ± 0,8
Urea (mg/100 ml)	30,5	37,2	21,3	42,8	19,7	23,8	29,2 ± 3,8
Bilirrubina total (mg/100 ml)	0,31	0,40	0,21	0,28	0,38	0,12	0,28 ± 0,04
Creatinina (mg/100 ml)	0,69	0,81	0,19	1,0	0,54	0,90	0,68 ± 0,11

Tabla 10. Parámetros bioquímicos sanguíneos en perros **tras el tratamiento** con norfloxacina, dosis orales de 10 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	P E R R O S (n = 6)						Media ± ESM
	1NOR1	1NOR2	1NOR3	1NOR4	1NOR5	1NOR6	
Fosfatasa alcalina (U/litro)	30,6	20,2	33,1	40,3	15,3	18,2	26,2 ± 4,0
AST (U/litro)	20,1	31,8	20,8	33,2	19,7	19,2	24,1 ± 2,7
ALT (U/litro)	48,1	20,2	24,1	43,3	17,2	20,3	28,8 ± 5,4
γ -GT (U/litro)	3,8	1,2	1,7	3,4	0,69	0,73	1,9 ± 0,5
Urea (mg/100 ml)	28,2	40,5	25,3	37,8	24,5	20,1	29,4 ± 3,3
Bilirrubina total (mg/100 ml)	0,28	0,32	0,27	0,38	0,40	0,16	0,30 ± 0,03
Creatinina (mg/100 ml)	0,62	0,92	0,33	1,0	0,68	0,71	0,71 ± 0,09

Tabla 11. Parámetros bioquímicos sanguíneos en perros **antes y tras el tratamiento con norfloxacina**, dosis orales de 10 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	Valores de referencia ^a medio - máximo (mínimo)	Antes del tratamiento	Después del tratamiento
Fosfatasa alcalina (U/litro)	30 - 160	44,3 ± 5,2	26,2 ± 4,0*
AST (U/litro)	25 - 50	36,1 ± 4,6	24,1 ± 2,7*
ALT (U/litro)	40 - 74	43,7 ± 5,2	28,8 ± 5,4**
γ -GT (U/litro)	2 - 6	3,6 ± 0,8	1,9 ± 0,5
Urea (mg/100 ml)	39 - 50 (15)	29,2 ± 3,8	29,4 ± 3,3
Bilirrubina total (mg/100 ml)	0,1 - 0,4	0,28 ± 0,04	0,30 ± 0,03
Creatinina (mg/100 ml)	0,07 - 1	0,68 ± 0,11	0,71 ± 0,09

^aNIEMAN y SUTER (1992)

Valores medios ± ESM ; * P < 0,05 ; ** P < 0,01

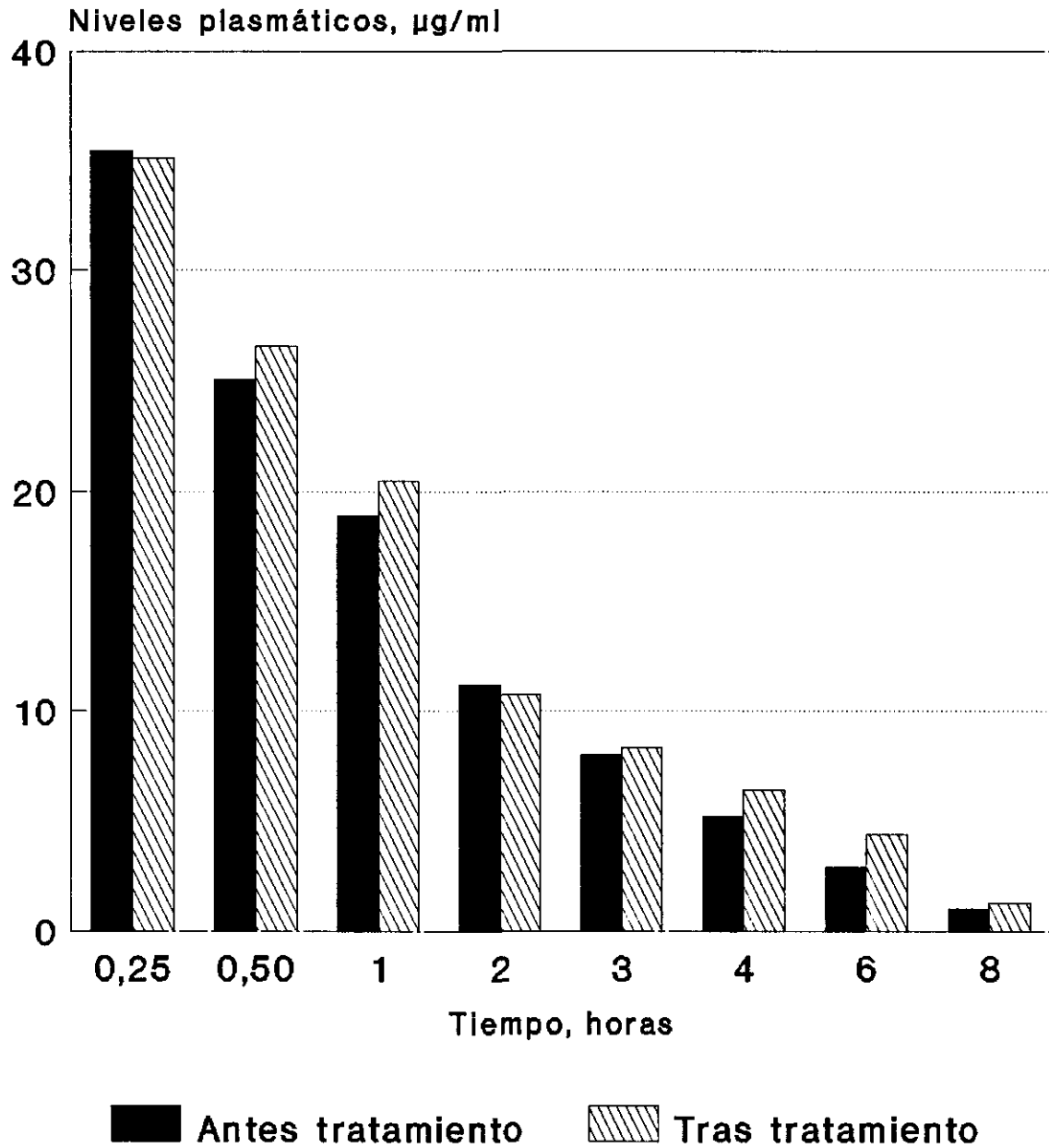
Tabla 12.- Niveles plasmáticos ($\mu\text{g/ml}$) de antipirina en perros tras dosis única i.v. de 20 mg/kg **antes del tratamiento** con ciprofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Tiempo	P E R R O S (n = 6)						Media \pm ESM
	OCP1	OCP2	OCP3	OCP4	OCP5	OCP6	
15 min	31,12	34,14	37,30	30,40	38,72	38,12	35,47 \pm 1,30
30 min	23,71	25,18	26,70	22,51	27,12	25,30	25,09 \pm 0,72
1 hora	17,53	20,71	21,40	16,70	19,01	18,12	18,91 \pm 0,75
2 horas	10,34	12,10	11,32	10,42	10,98	11,90	11,18 \pm 0,30
3 horas	8,01	8,51	9,26	7,22	7,52	7,50	8,00 \pm 0,31
4 horas	6,62	4,23	4,50	5,28	5,20	4,98	5,13 \pm 0,34
6 horas	4,60	2,71	2,61	2,98	2,12	2,30	2,89 \pm 0,36
8 horas	1,02	0,98	0,91	1,42	0,96	0,92	1,03 \pm 0,08

Tabla 13.- Niveles plasmáticos ($\mu\text{g/ml}$) de antipirina en perros tras dosis única i.v. de 20 mg/kg tras el tratamiento con ciprofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Tiempo	P E R R O S (n = 6)						Media \pm ESM
	1CP1	1CP2	1CP3	1CP4	1CP5	1CP6	
15 min	34,68	35,70	38,10	30,52	36,12	35,50	35,10 \pm 1,03
30 min	24,52	26,12	26,80	26,02	30,02	26,12	26,60 \pm 0,75
1 hora	19,51	21,80	21,50	19,12	21,12	19,80	20,47 \pm 0,46
2 horas	11,51	10,92	11,02	10,12	10,38	10,50	10,74 \pm 0,21
3 horas	9,32	8,91	9,01	8,50	7,12	6,98	8,31 \pm 0,41
4 horas	6,67	8,01	6,92	6,12	5,70	5,02	6,41 \pm 0,42
6 horas	5,18	4,08	3,98	5,42	3,20	4,12	4,33 \pm 0,34
8 horas	1,78	1,87	1,92	1,96	1,88	1,80	1,87 \pm 0,03

Figura 4.- Niveles plasmáticos medios de antipirina en perros antes y tras tratamiento con ciprofloxacina.



Antipirina, dosis única i.v. 20 mg/kg
 Ciprofloxacina, dosis orales de
 30 mg/kg/día, 10 días.

Tabla 14.- Parámetros farmacocinéticos de antipirina tras dosis única i.v. de 20 mg/kg en perros antes del tratamiento con ciprofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	OCP1	OCP2	OCP3	OCP4	OCP5	OCP6	Media ± ESM, n=6
A ₁ (µg/ml)	42,60	36,86	48,98	22,93	36,86	52,11	40,06 ± 4,27
A ₂ (µg/ml)	22,53	31,05	31,46	19,62	25,96	25,36	26,00 ± 1,91
α (h ⁻¹)	4,62	7,1	6,73	2,52	3,42	4,86	4,88 ± 0,74
β (h ⁻¹)	0,32	0,44	0,44	0,32	0,41	0,40	0,39 ± 0,02
t _{½α} (h)	0,15	0,10	0,10	0,27	0,20	0,14	0,16 ± 0,03
t _{½β} (h)	2,16	1,57	1,57	2,16	1,67	1,73	1,81 ± 0,11
V _c (l/kg)	0,31	0,29	0,25	0,47	0,32	0,26	0,32 ± 0,03
V _β (l/kg)	0,78	0,60	0,58	0,89	0,66	0,67	0,70 ± 0,05
V _{ss} (l/kg)	0,70	0,55	0,52	0,77	0,57	0,58	0,61 ± 0,04
K ₁₂ (h ⁻¹)	2,31	3,16	3,26	0,90	1,33	2,35	2,22 ± 0,39
K ₂₁ (h ⁻¹)	1,81	3,48	2,81	1,33	1,65	1,86	2,17 ± 0,35
K ₁₀ (h ⁻¹)	0,82	0,90	1,02	0,60	0,85	1,04	0,87 ± 0,06
AUC (mg.h/l)	70,63	75,76	78,75	70,41	74,09	74,12	75,46 ± 1,39
MRT (h)	2,79	2,13	2,08	2,77	2,13	2,17	2,34 ± 0,14
VRT (h ²)	9,51	5,10	5,07	9,36	5,67	6,00	6,78 ± 0,85
Cl (l/h.kg)	0,25	0,26	0,25	0,28	0,27	0,27	0,263 ± 0,005
K ₁₂ /K ₂₁	1,28	0,91	1,12	0,67	0,80	1,27	1,01 ± 0,10
K ₁₂ /K ₁₀	2,83	3,52	3,19	1,49	1,57	2,25	2,47 ± 0,34
K ₂₁ /K ₁₀	2,21	3,89	2,83	2,21	1,95	1,78	2,48 ± 0,32

Tabla 15.- Parámetros farmacocinéticos de antipirina tras dosis única i.v. de 20 mg/kg en perros tras el tratamiento con ciprofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	1CP1	1CP2	1CP3	1CP4	1CP5	1CP6	Media ± ESM, n=6
A_1 ($\mu\text{g/ml}$)	36,16	29,86	35,94	21,13	29,19	31,46	30,62 ± 2,26
A_2 ($\mu\text{g/ml}$)	22,25	24,32	23,28	16,00	15,37	12,29	18,42 ± 2,04
α (h^{-1})	3,76	3,16	2,97	1,31	1,38	1,25	2,30 ± 0,46
β (h^{-1})	0,28	0,31	0,31	0,22	0,26	0,21	0,26 ± 0,02
$t_{1/2\alpha}$ (h)	0,18	0,21	0,23	0,53	0,50	0,55	0,37 ± 0,07
$t_{1/2\beta}$ (h)	2,47	2,23	2,23	3,15	2,66	3,30	2,67 ± 0,19
V_c (l/kg)	0,34	0,37	0,34	0,54	0,45	0,46	0,42 ± 0,03
V_β (l/kg)	0,80	0,73	0,74	1,02	0,96	1,14	0,90 ± 0,07
V_{ss} (l/kg)	0,71	0,67	0,65	0,85	0,75	0,85	0,75 ± 0,03
K_{12} (h^{-1})	1,77	1,26	1,24	0,42	0,44	0,43	0,73 ± 0,23
K_{21} (h^{-1})	1,60	1,58	1,35	0,69	0,65	0,50	1,06 ± 0,20
K_{10} (h^{-1})	0,65	0,61	0,68	0,42	0,55	0,52	0,57 ± 0,04
AUC (mg.h/l)	89,08	87,90	87,20	88,86	80,27	83,69	86,17 ± 1,43
MRT (h)	3,21	2,91	2,82	3,86	3,02	3,57	3,23 ± 0,17
VRT (h^2)	12,43	10,11	9,97	19,14	12,92	19,35	13,99 ± 1,74
Cl (l/h.kg)	0,22	0,23	0,23	0,22	0,25	0,24	0,232 ± 0,005
K_{12}/K_{21}	1,11	0,79	0,92	0,61	0,68	0,87	0,83 ± 0,07
K_{12}/K_{10}	2,71	2,05	1,83	1,01	0,79	0,83	1,51 ± 0,32
K_{21}/K_{10}	2,45	2,58	2,00	1,65	1,16	0,96	1,80 ± 0,27

Tabla 16.- Efecto del pretratamiento de ciprofloxacina (dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días) sobre parámetros farmacocinéticos de eliminación de la antipirina en perros.

Parámetros	Antes del tratamiento de ciprofloxacina	Tras el tratamiento de ciprofloxacina
$t_{1/2\beta}$ (h)	1,81 ± 0,11	2,67 ± 0,19**
AUC (mg.h/l)	75,46 ± 1,39	86,17 ± 1,43***
Cl (l/kg.h)	0,263 ± 0,005	0,232 ± 0,005***
MRT (h)	2,34 ± 0,14	3,23 ± 0,17**
$V\beta$ (l/kg)	0,70 ± 0,05	0,90 ± 0,07*
V_{ss} (l/kg)	0,61 ± 0,04	0,75 ± 0,03*

Valores medios ± ESM, n=6

* P < 0,05

** P < 0,01

*** P < 0,001

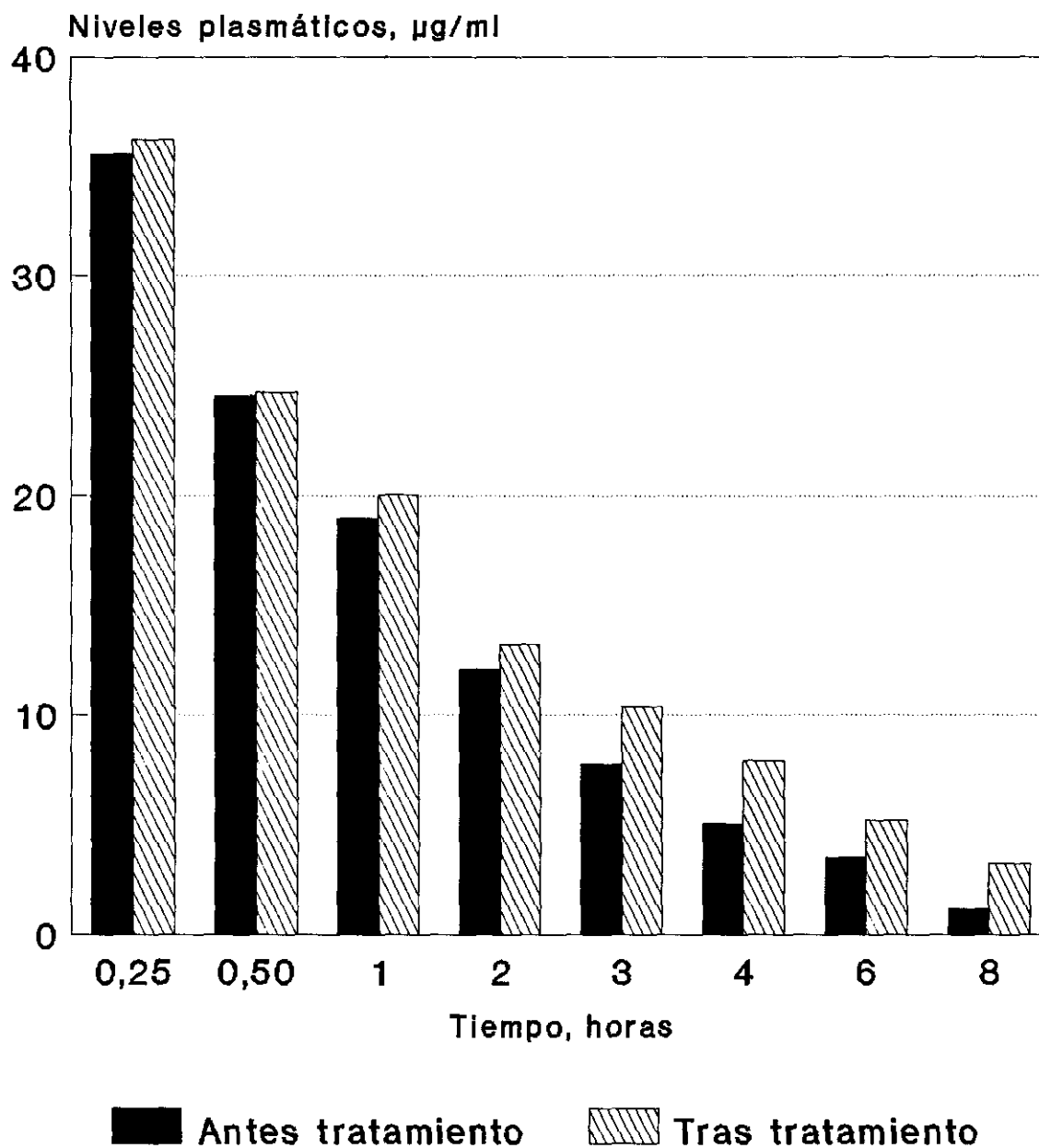
Tabla 17.- Niveles plasmáticos ($\mu\text{g/ml}$) de antipirina en perros tras dosis única i.v. de 20 mg/kg antes del tratamiento con enrofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Tiempo	P E R R O S (n = 6)						Media \pm ESM
	0ENR1	0ENR2	0ENR3	0ENR4	0ENR5	0ENR6	
15 min	37,12	35,61	37,46	34,72	37,50	31,10	35,58 \pm 1,01
30 min	25,03	24,99	25,05	24,13	26,10	22,24	24,57 \pm 0,55
1 hora	18,60	20,11	17,79	19,10	21,12	17,12	18,97 \pm 0,60
2 horas	13,65	12,47	10,25	13,76	12,30	10,08	12,08 \pm 0,65
3 horas	7,12	7,31	8,72	7,85	8,30	7,05	7,72 \pm 0,28
4 horas	5,14	4,67	5,33	5,44	4,20	5,18	4,99 \pm 0,19
6 horas	3,50	3,80	3,87	3,92	2,90	2,80	3,46 \pm 0,20
8 horas	1,34	0,98	1,10	1,42	1,36	0,83	1,17 \pm 0,10

Tabla 18 .- Niveles plasmáticos ($\mu\text{g/ml}$) de antipirina en perros tras dosis única i.v. de 20 mg/kg **tras el tratamiento** con enrofloxacina, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Tiempo	P E R R O S (n = 6)						Media \pm ESM
	1ENR1	1ENR2	1ENR3	1ENR4	1ENR5	1ENR6	
15 min	36,97	37,88	38,54	35,32	36,10	32,30	36,18 \pm 0,91
30 min	24,72	26,06	25,36	24,50	25,12	22,70	24,74 \pm 0,47
1 hora	18,48	21,85	19,13	20,10	22,14	18,10	20,02 \pm 0,68
2 horas	11,38	12,86	13,42	14,82	13,96	12,90	13,19 \pm 0,47
3 horas	10,12	9,56	10,41	11,12	10,71	10,52	10,41 \pm 0,22
4 horas	9,59	6,54	5,67	9,87	8,12	7,54	7,89 \pm 0,68
6 horas	5,73	4,81	4,63	5,56	4,98	5,15	5,14 \pm 0,17
8 horas	3,30	2,98	3,01	3,20	3,72	3,45	3,23 \pm 0,11

Figura 5.- Niveles plasmáticos medios de antipirina en perros antes y tras tratamiento con enrofloxacina.



Antipirina, dosis única i.v. 20 mg/kg
Enrofloxacina, dosis orales de
30 mg/kg/día, 10 días.

Tabla 19.- Parámetros farmacocinéticos de antipirina tras dosis única i.v. de 20 mg/kg en perros antes del tratamiento con enrofloxacin, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	OENR1	OENR2	OENR3	OENR4	OENR5	OENR6	Media ± ESM, n=6
A ₁ (µg/ml)	53,61	42,46	45,63	53,98	38,29	38,34	45,38 ± 2,89
A ₂ (µg/ml)	27,40	29,39	22,13	27,45	25,49	24,07	25,99 ± 1,07
α (h ⁻¹)	5,94	6,22	3,84	6,89	3,84	5,55	5,38 ± 0,52
β (h ⁻¹)	0,39	0,42	0,33	0,37	0,37	0,39	0,38 ± 0,01
t _{1/2} α (h)	0,12	0,11	0,18	0,10	0,18	0,12	0,13 ± 0,01
t _{1/2} β (h)	1,78	1,65	2,10	1,87	1,87	1,78	1,84 ± 0,06
V _c (l/kg)	0,25	0,28	0,29	0,24	0,31	0,32	0,28 ± 0,01
V _B (l/kg)	0,65	0,62	0,77	0,66	0,68	0,75	0,69 ± 0,02
V _{ss} (l/kg)	0,57	0,76	0,65	0,59	0,60	0,67	0,64 ± 0,03
K ₁₂ (h ⁻¹)	3,04	2,91	1,83	3,70	1,64	2,65	2,63 ± 0,32
K ₂₁ (h ⁻¹)	2,27	2,79	1,48	2,57	1,76	2,38	2,21 ± 0,20
K ₁₀ (h ⁻¹)	1,02	0,93	0,86	0,99	0,81	0,91	0,92 ± 0,03
AUC (mg.h/l)	79,28	71,80	78,94	82,02	78,86	68,63	77,42 ± 1,89
MRT (h)	2,29	2,18	2,61	2,45	2,39	2,32	2,37 ± 0,06
VRT (h ²)	6,41	5,56	8,79	7,17	7,05	6,43	6,90 ± 0,44
Cl (l/h.kg)	0,25	0,35	0,25	0,24	0,25	0,29	0,27 ± 0,02
K ₁₂ /K ₂₁	1,34	1,04	1,24	1,44	0,93	1,11	1,18 ± 0,08
K ₁₂ /K ₁₀	2,98	3,11	2,14	3,73	2,03	2,91	2,82 ± 0,26
K ₂₁ /K ₁₀	2,22	2,98	1,72	2,59	2,17	2,62	2,38 ± 0,18

Tabla 20.- Parámetros farmacocinéticos de antipirina tras dosis única i.v. de 20 mg/kg en perros tras el tratamiento con enrofloxacin, dosis orales de 30 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	1ENR1	1ENR2	1ENR3	1ENR4	1ENR5	1ENR6	Media ± ESM, n=6
A ₁ (µg/ml)	44,22	41,40	50,14	58,39	42,67	36,66	45,58 ± 3,13
A ₂ (µg/ml)	19,65	21,46	21,31	25,28	23,18	22,33	22,20 ± 0,78
α (h ⁻¹)	3,45	3,12	3,68	6,47	4,06	4,74	4,25 ± 0,50
β (h ⁻¹)	0,21	0,25	0,25	0,25	0,24	0,25	0,24 ± 0,01
t _{1/2} α (h)	0,20	0,22	0,19	0,11	0,17	0,14	0,17 ± 0,02
t _{1/2} β (h)	3,30	2,77	2,77	2,77	2,89	2,77	2,88 ± 0,09
V _c (l/kg)	0,31	0,32	0,28	0,24	0,30	0,34	0,39 ± 0,01
V _B (l/kg)	0,89	0,81	0,81	0,73	0,78	0,82	0,81 ± 0,02
V _{ss} (l/kg)	0,80	0,70	0,70	0,66	0,70	0,78	0,72 ± 0,02
K ₁₂ (h ⁻¹)	1,85	1,50	1,93	3,83	2,10	2,43	2,27 ± 0,34
K ₂₁ (h ⁻¹)	1,21	1,23	1,27	2,13	1,58	1,95	1,56 ± 0,16
K ₁₀ (h ⁻¹)	0,60	0,63	0,72	0,76	0,61	0,61	0,65 ± 0,03
AUC (mg.h/l)	106,39	99,11	98,86	110,14	107,09	97,05	103,11 ± 2,22
MRT (h)	4,22	3,51	3,49	3,68	3,78	3,70	3,73 ± 0,11
VRT (h ²)	22,07	15,44	15,46	15,80	17,02	15,78	16,93 ± 1,06
Cl (l/h.kg)	0,19	0,20	0,20	0,18	0,19	0,21	0,195 ± 0,004
K ₁₂ /K ₂₁	1,53	1,22	1,52	1,80	1,32	1,25	1,44 ± 0,09
K ₁₂ /K ₁₀	3,09	2,37	2,68	5,04	3,41	4,06	3,43 ± 0,40
K ₂₁ /K ₁₀	2,01	1,94	1,76	2,80	2,58	3,21	2,38 ± 0,23

Tabla 21.- Efecto del pretratamiento de enrofloxacin (dosis orales de 30mg/kg/día, 10 días) sobre parámetros farmacocinéticos de eliminación de la antipirina en perros.

Parámetros	Antes del tratamiento de enrofloxacin	Tras el tratamiento de enrofloxacin
$t_{1/2\beta}$ (h)	1,84 ± 0,06	2,88 ± 0,09 ^{***}
AUC (mg.h/l)	77,42 ± 1,89	103,11 ± 2,22 ^{***}
Cl (l/kg.h)	0,27 ± 0,02	0,195 ± 0,004 ^{**}
MRT (h)	2,37 ± 0,06	3,73 ± 0,11 ^{***}
VB (l/kg)	0,69 ± 0,02	0,81 ± 0,02 ^{**}
Vss (l/kg)	0,64 ± 0,03	0,72 ± 0,02 [*]

Valores medios ± ESM, n=6

* P < 0,05

** P < 0,01

*** P < 0,001

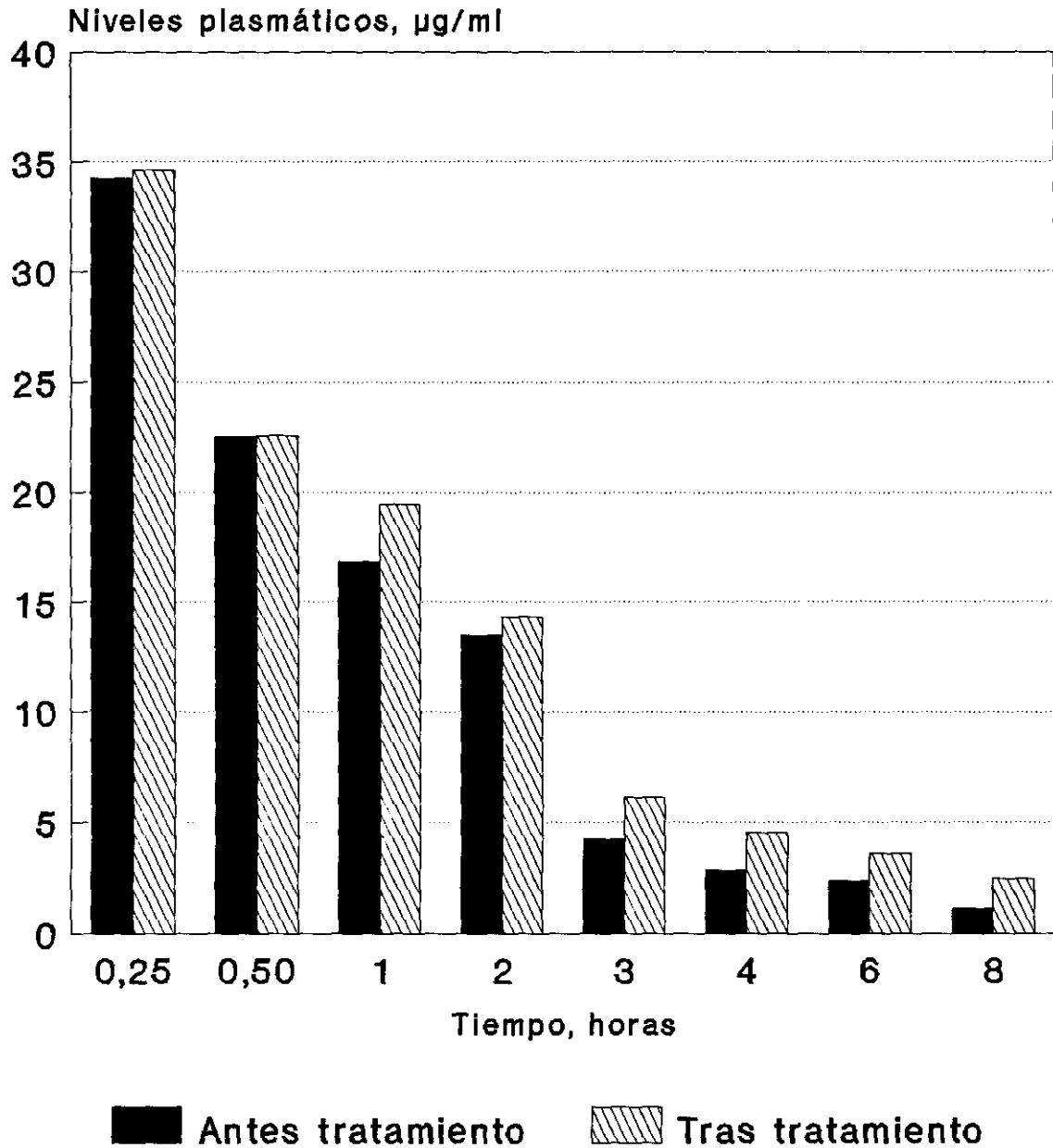
Tabla 22.- Niveles plasmáticos ($\mu\text{g/ml}$) de antipirina en perros tras dosis única i.v. de 20 mg/kg **antes del tratamiento** con norfloxacin, dosis orales de 10 mg/kg/día, 10 días.

Tiempo	P E R R O S (n = 6)						Media \pm ESM
	ONOR1	ONOR2	ONOR3	ONOR4	ONOR5	ONOR6	
15 min	36,59	32,84	33,58	35,80	33,12	33,70	34,27 \pm 0,63
30 min	23,99	21,48	21,45	24,75	21,70	21,82	22,53 \pm 0,59
1 hora	18,72	15,79	18,25	17,12	15,16	16,05	16,85 \pm 0,58
2 horas	13,15	13,29	13,96	13,50	13,30	13,40	13,43 \pm 0,12
3 horas	3,39	4,71	3,87	4,15	4,68	4,62	4,23 \pm 0,22
4 horas	2,51	3,19	2,23	2,12	3,02	3,05	2,85 \pm 0,16
6 horas	1,88	2,49	1,47	2,70	2,69	2,80	2,34 \pm 0,22
8 horas	0,82	1,28	0,98	0,96	1,36	1,32	1,12 \pm 0,09

Tabla 23.- Niveles plasmáticos ($\mu\text{g/ml}$) de antipirina en perros tras dosis única i.v. de 20 mg/kg **tras el tratamiento** con norfloxacin, dosis orales de 10 mg/kg/día, 10 días.

Tiempo	P E R R O S (n = 6)						Media \pm ESM
	1NOR1	1NOR2	1NOR3	1NOR4	1NOR5	1NOR6	
15 min	35,09	37,13	33,15	34,20	34,12	34,10	34,63 \pm 0,56
30 min	22,67	21,52	22,64	23,12	23,10	22,50	22,59 \pm 0,24
1 hora	20,06	18,50	18,24	20,10	19,68	20,14	19,45 \pm 0,35
2 horas	14,60	14,52	13,00	13,70	14,02	16,01	14,31 \pm 0,42
3 horas	5,09	5,90	5,78	6,10	6,70	7,10	6,11 \pm 0,29
4 horas	4,24	3,99	4,21	4,30	5,10	5,20	4,51 \pm 0,21
6 horas	2,88	3,52	3,44	3,12	3,89	4,80	3,61 \pm 0,28
8 horas	1,82	2,36	2,23	2,10	3,18	3,12	2,47 \pm 0,23

Figura 6.- Niveles plasmáticos medios de antipirina en perros antes y tras tratamiento con norfloxacina.



Antipirina, dosis única i.v. 20 mg/kg
Norfloxacina, dosis orales de
10 mg/kg/día, 10 días.

Tabla 24.- Parámetros farmacocinéticos de antipirina tras dosis única i.v. de 20 mg/kg en perros antes del tratamiento con norfloxacin, dosis orales de 10 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	ONOR1	ONOR2	ONOR3	ONOR4	ONOR5	ONOR6	Media ± ESM, n=6
A ₁ (µg/ml)	40,90	43,49	47,13	33,55	44,32	47,53	42,82 ± 2,11
A ₂ (µg/ml)	24,56	23,31	23,47	24,33	20,43	22,12	23,04 ± 0,63
α (h ⁻¹)	4,52	5,24	5,93	5,75	4,63	5,10	4,86 ± 0,30
β (h ⁻¹)	0,45	0,40	0,43	0,42	0,36	0,38	0,41 ± 0,01
t _{½α} (h)	0,15	0,13	0,12	0,18	0,15	0,13	0,14 ± 0,01
t _{½β} (h)	1,54	1,73	1,61	1,65	1,92	1,82	1,71 ± 0,06
V _c (l/kg)	0,30	0,30	0,28	0,34	0,31	0,29	0,30 ± 0,01
V _B (l/kg)	0,70	0,75	0,74	0,71	0,83	0,78	0,75 ± 0,02
V _{ss} (l/kg)	0,60	0,66	0,66	0,63	0,72	0,69	0,66 ± 0,02
K ₁₂ (h ⁻¹)	1,96	2,55	2,97	1,48	2,31	2,57	2,31 ± 0,21
K ₂₁ (h ⁻¹)	1,98	2,09	2,26	1,82	1,71	1,88	1,96 ± 0,68
K ₁₀ (h ⁻¹)	1,03	1,00	1,13	0,86	0,98	1,03	1,00 ± 0,03
AUC (mg.h/l)	63,63	66,57	62,53	66,87	66,32	67,53	65,57 ± 0,82
MRT (h)	1,94	2,21	2,05	2,10	2,41	2,29	2,17 ± 0,07
VRT (h ²)	4,73	6,06	5,24	5,44	7,41	6,68	5,93 ± 0,41
Cl (l/h.kg)	0,31	0,30	0,32	0,30	0,30	0,30	0,305 ± 0,003
K ₁₂ /K ₂₁	0,99	1,22	1,32	0,81	1,35	1,37	1,18 ± 0,09
K ₁₂ /K ₁₀	1,91	2,57	2,63	1,71	2,36	2,49	2,27 ± 0,15
K ₂₁ /K ₁₀	1,92	2,08	2,00	2,10	1,75	1,82	1,94 ± 0,06

Tabla 25.- Parámetros farmacocinéticos de antipirina tras dosis única i.v. de 20 mg/kg en perros tras el tratamiento con norfloxacina, dosis orales de 10 mg/kg/día, 10 días.

Parámetros	1NOR1	1NOR2	1NOR3	1NOR4	1NOR5	1NOR6	Media ± ESM, n=6
A ₁ (µg/ml)	41,53	44,75	38,07	38,90	38,24	53,33	42,47 ± 2,41
A ₂ (µg/ml)	25,45	22,67	19,06	21,71	19,47	24,19	22,09 ± 1,04
α (h ⁻¹)	6,06	5,55	3,48	3,63	3,31	6,12	4,69 ± 0,55
β (h ⁻¹)	0,37	0,33	0,28	0,32	0,26	0,30	0,31 ± 0,01
t _{½α} (h)	0,11	0,12	0,20	0,19	0,21	0,11	0,16 ± 0,02
t _{½β} (h)	1,87	2,10	2,47	2,16	2,66	2,31	2,26 ± 0,11
V _c (l/kg)	0,30	0,30	0,35	0,33	0,35	0,25	0,31 ± 0,01
V _B (l/kg)	0,71	0,79	0,90	0,79	0,89	0,71	0,80 ± 0,03
V _{ss} (l/kg)	0,64	0,71	0,78	0,68	0,77	0,66	0,71 ± 0,02
K ₁₂ (h ⁻¹)	3,01	2,91	1,69	1,67	1,61	3,44	2,39 ± 0,34
K ₂₁ (h ⁻¹)	2,53	2,08	1,35	1,50	1,29	2,12	1,81 ± 0,20
K ₁₀ (h ⁻¹)	0,88	0,88	0,72	0,77	0,67	0,87	0,80 ± 0,04
AUC (mg.h/l)	75,64	76,76	79,01	78,56	86,44	89,33	80,96 ± 2,28
MRT (h)	2,47	2,73	3,12	2,74	3,37	3,02	2,91 ± 0,13
VRT (h ²)	7,17	8,98	12,29	9,40	14,28	10,91	10,50 ± 1,04
Cl (l/h.kg)	0,26	0,26	0,25	0,25	0,23	0,22	0,245 ± 0,007
K ₁₂ /K ₂₁	1,19	1,40	1,25	1,11	1,25	1,62	1,30 ± 0,07
K ₁₂ /K ₁₀	3,40	3,32	2,34	2,16	2,41	3,97	2,93 ± 0,30
K ₂₁ /K ₁₀	2,86	2,37	1,86	1,95	1,93	2,44	2,23 ± 0,16

Tabla 26.- Efecto del pretratamiento de norfloxacin (dosis orales de 10 mg/kg/día, 10 días) sobre parámetros farmacocinéticos de eliminación de la antipirina en perros.

Parámetros	Antes del tratamiento de norfloxacin	Tras el tratamiento de norfloxacin
$t_{1/2\beta}$ (h)	1,71 ± 0,06	2,26 ± 0,11**
AUC (mg.h/l)	65,57 ± 0,82	80,96 ± 2,28***
Cl (l/kg.h)	0,305 ± 0,003	0,245 ± 0,007***
MRT (h)	2,17 ± 0,07	2,91 ± 0,13***
V β (l/kg)	0,75 ± 0,02	0,80 ± 0,03
V _{ss} (l/kg)	0,66 ± 0,02	0,71 ± 0,02

Valores medios ± ESM, n=6

* P < 0,05

** P < 0,01

*** P < 0,001

DISCUSSION

4. DISCUSION

En esta investigación, nosotros hemos estudiado principalmente la actividad de posibles enzimas implicadas en la biotransformación de fármacos, y las propiedades farmacocinéticas de la antipirina (sustrato modelo ampliamente usado para investigar factores que afectan la actividad de enzimas oxidativas hepáticas metabolizantes de fármacos) bajo condiciones control, es decir antes de cualquier tratamiento medicamentoso, y tras el tratamiento con las fluoroquinolonas ciprofloxacina, enrofloxacina y norfloxacina, en el perro.

La acción esencial de las enzimas metabolizantes de fármacos es convertir fármacos lipofílicos en metabolitos más hidrosolubles que sean más fácilmente excretados en bilis o en orina. El hígado está anatómicamente situado de forma que puede a partir de la sangre venosa portal extraer y metabolizar compuestos lipofílicos ingeridos incluyendo fármacos. Las alteraciones enzimáticas implican generalmente, bien, o una pérdida o, bien, un aumento de la actividad farmacológica de un fármaco. Por lo tanto, está claro que la capacidad de un animal, o un individuo en general, para metabolizar un fármaco particular puede ser un factor importante en la determinación de la eficacia, de la duración de acción, y de la toxicidad de ese fármaco.

En nuestro estudio, en el perro, el tratamiento de dosis múltiples del agente antimicrobiano ciprofloxacina originó

alteraciones estadísticamente significativas en las actividades de las enzimas plasmáticas fosfatasa alcalina, AST, ALT y γ -GT. La enzima significativamente más afectada fué la enzima γ -GT con variaciones de actividad desde 3,6 a 0,94 U/litro tras el tratamiento con dicha fluoroquinolona ($P < 0,001$). Este efecto significativo no fué observado, como podría esperarse también, en los valores de la bilirrubina plasmática total. Por otra parte, los valores de urea y creatinina en plasma tampoco se vieron afectados. Estos resultados bien podrían apuntar que la ciprofloxacina no afecta el sistema renal, pero sí parece alterar el funcionamiento hepático. Similares observaciones fueron constatadas para la fluoroquinolona enrofloxacin. La enrofloxacin origina una reducción de la actividad de la enzima γ -GT plasmática de valores de 3,2 a 0,85 U/litro ($P < 0,001$). La fluoroquinolona norfloxacina, por el contrario, no afectó la actividad de la enzima γ -GT plasmática, aunque sí redujo las actividades de las otras enzimas plasmáticas estudiadas fosfatasa alcalina, AST y ALT.

Teóricamente, la medida de la actividad de enzimas hepáticas **in vitro** sería el método ideal para evaluar la capacidad hepática metabolizante de fármacos. Por consideraciones prácticas y bioéticas, las muestras de biopsia hepática, muestras ideales para estos estudios, generalmente solo se toman cuando se sospecha grandemente que existe enfermedad hepática grave y tejido en exceso se requiere para examen histológico. De cualquier forma, la muestra obtenida en biopsia suele ser mínima por lo que en estos casos de muestras de biopsia hepática se

deberían usar micrométodos sensibles para determinar las actividades enzimáticas (FARRELL et al., 1979 ; PELKONEN et al., 1980 ; BOOBIS et al., 1980).

Cuantitativamente, las enzimas más importantes son las monooxigenasas microsomales hepáticas de función mixta, las cuales simplemente, por insercción de un oxígeno en la molécula, son capaces de catalizar numerosas biotransformaciones implicando a una amplia variedad de sustratos endógenos y exógenos. Existen múltiples formas de la enzima terminal citocromo P450, en animales y en el hombre (LU y WEST, 1980); al menos han sido purificadas seis formas de esta enzima a partir de hígado de rata (WALTZ et al., 1982).

La técnica más ampliamente usada para evaluar la actividad de enzimas hepáticas metabolizantes de fármacos es estudiar la cinética de sustratos-fármacos modelos *in vivo*, tales como el fármaco antipirina (ANADON, 1983 ; ANADON et al., 1989), e idealmente evaluar de forma paralela en experimentos *in vitro* directamente estas enzimas monooxigenasas a partir de fracciones microsomales hepáticas (ANADON et al., 1991 ; MARTINEZ-LARRANAGA et al., 1992), aunque este último estudio se vé restringido en algunas investigaciones por consideraciones prácticas o éticas.

Entre los métodos no-invasivos para la evaluación de la capacidad del hígado para metabolizar fármacos, teóricamente, tenemos la evaluación de la alteración en la disposición de un compuesto endógeno, o la alteración en la actividad de una enzima

asequible (sangre) elegida por su participación en alguna de las fases de biotransformación de fármacos. Diversas sustancias pueden incluirse para este propósito, entre las que destaca la enzima gamma-glutamilttransferasa (γ -GT) en plasma.

La γ -GT es una enzima ubicua encontrada en el riñón, hígado, pancreas y testículos (ORLOWSKI, 1963) que cataliza la transferencia de γ -glutamilpéptidos desde el glutatión a otros péptidos o aminoácidos. Un papel directo de la γ -GT en el metabolismo de fármacos no ha sido establecido. Originalmente se pensó que la γ -GT hepática está localizada principalmente en el retículo endoplásmico (SZEWCZUC, 1966) pero posteriormente se indicaron mayores concentraciones en la membrana plasmática (RATANASAVANH et al., 1979). En ratas, la actividad de la γ -GT es alrededor de dos veces tan alta en la célula parenquimal como en el hepatocito (GALTEAU et al., 1980). La γ -GT plasmática medida por el método de SZASZ (1969) usando bien L- γ -glutamil-4-nitroanilida o L- γ -glutamilcarboxi-4-nitroanilida como sustrato donador y glicilglicina como sustrato aceptor, y determinando por absorbancia la producción de 4-nitroanilina o su 3-carboxi derivado (GALTEAU y SCHIELE, 1982), es un parámetro, aunque con limitaciones, útil para la evaluación de fenómenos de inducción o inhibición enzimática. La actividad de la γ -GT plasmática se mide en bioquímica clínica en casos de lesión hepática particularmente en casos de carcinomas, colestasis (KRYSZEWSKI et al., 1973) y tras consumo de alcohol (ROSALKI y RAU, 1972). También se ha sugerido que esta enzima puede usarse como indicador de inducción enzimática por ciertos fármacos

(HILDEBRANDT et al., 1975); altos valores de γ -GT plasmática se han encontrado en pacientes que reciben agentes inductores enzimáticos tales como hipnóticos y anticonvulsivantes (ROSALKI et al., 1971), y en experimentación en ratas tratadas con el piretroide insecticida permetrina (ANADON et al., 1988). Sin embargo, la administración de fármacos que no se piensa sean agentes inductores enzimáticos, tales como las benzodiazepinas (WHITFIELD et al., 1973) e imipramina (TAZI et al. 1980a) puede también originar un incremento en la γ -GT plasmática.

Numerosos estudios se han llevado a cabo sobre la relación entre la inducción enzimática y la γ -GT plasmática tanto en animales como en el hombre. En un estudio cinético de inducción de fenobarbital en el conejo (TAZI et al., 1980b) se observó que las concentraciones de la γ -GT plasmática permanecían al principio inalteradas pero aumentaban transcurridos 18 días de tratamiento y este efecto era paralelo con el incremento del contenido de citocromo P450 hepático y de la γ -GT hepática. Se pensó que la concentración de la γ -GT plasmática depende al menos de dos factores, inducción de la γ -GT hepática y alteración de la membrana plasmática. Dado que estas dos funciones no tienen porque estar necesariamente asociadas, la concentración de la γ -GT plasmática debe de analizarse con precaución como un índice de inducción o inhibición de enzimas metabolizantes de fármacos. No obstante y en base a todas las consideraciones expuestas, el descenso en los valores de la γ -GT plasmática encontrado en la presente investigación tras el tratamiento con las fluoroquinolonas ciprofloxacina y

enrofloxacina nos apuntan a sugerir la implicación de un fenómeno de inhibición enzimática, efecto también constatado analizando los resultados obtenidos en la cinética de la antipirina.

Como hemos indicado anteriormente, la antipirina es el sustrato modelo más ampliamente usado para investigar factores que influyen en la actividad de enzimas oxidativas hepáticas metabolizantes de fármacos (VESELL, 1979). La antipirina está considerada como un fármaco-test útil para monitorizar la actividad de monooxigenasas hepáticas de función mixta debido a que la antipirina se absorbe rápidamente y completamente del tracto gastrointestinal, se distribuye en el agua corporal total con una unión negligible a proteínas plasmáticas y tisulares y se metaboliza casi completamente en el hígado. Por lo tanto, el clearance o aclaramiento plasmático de la antipirina es un reflejo indirecto del metabolismo de antipirina y es independiente del flujo sanguíneo hepático (BRANCH et al., 1974; OHNHAUS et al., 1976). Otra ventaja de la antipirina es que puede ser medida fácilmente en plasma tras dosis que no tienen actividad farmacológica o toxicológica. El test de la antipirina se ha utilizado ampliamente para investigar fenómenos de inducción o inhibición enzimática (ANADON, 1983 ; ANADON et al., 1989, 1991 ; BEKERSKY et al., 1977 ; DEPELCHIN et al., 1987 ; MORELAND et al., 1982 ; PATSALOS et al., 1988 ; SVENSSON, 1987; VAN DYKE et al., 1987). Idealmente, la cinética de antipirina debe medirse antes de la imposición del factor considerado a estudio. Las vidas medias o semiperiodos plasmáticos de la antipirina son normalmente muy significativamente reproducibles

(VESELL, 1979 ; PAIGEN et al., 1982).

En nuestros resultados se demuestra que el tratamiento de las tres fluoroquinolonas estudiadas ciprofloxacina, enrofloxacina y norfloxacina afecta a la cinética de la antipirina. Significativamente, se originó un descenso del clearance plasmático total de antipirina así como un aumento de la vida media, del tiempo medio de residencia y del área bajo la curva.

El efecto inhibitorio del tratamiento de ciprofloxacina, pero no el de enrofloxacina, sobre la disposición de antipirina y también sobre la disposición de teofilina y cafeína ha sido previamente descrito, principalmente en el hombre y en animales de experimentación, ratas (ANADON et al., 1990c ; BACHMANN et al., 1988 ; HEALY et al., 1989 ; LUDWIG et al., 1988 ; RAOOF et al., 1987 ; ROBSON et al., 1990 ; STAIB et al., 1987 ; SCHWARTZ et al., 1988 ; WIJNANDS y VREE, 1988 ; WIJNANDS et al., 1986) ; efecto paralelo al observado *in vitro* en microsomas hepáticos (NAKANISHI et al., 1990 ; SARKAR et al., 1990). Un posible mecanismo que podría explicar esta interacción y que podría también justificar como todas las fluoroquinolonas no tienen la misma potencia inhibitoria sobre el metabolismo hepático de fármacos es la formación de un metabolito clave a partir de las quinolonas padres. WIJNANDS et al. (1986) sugieren que la causa de esta interacción es la formación de un 4-oxometabolito. Esta hipótesis tiene como soporte la correlación significativa entre la magnitud de la capacidad de la quinolona para inhibir el

clearance de teofilina y la recuperación urinaria del 4-oxometabolito de la quinolona padre. Se ha sugerido que quizás la estructura 4-oxoquinolona compite con la teofilina por las enzimas hepáticas responsables de la N-demetilación de la teofilina, hecho que también sucedería con la antipirina ya que igualmente sufre en su biotransformación una N-demetilación, entre otras reacciones (BATY y PRICE-EVANS, 1973). Diferentes isoenzimas del citocromo P450 han sido implicadas en el metabolismo de la teofilina y de la antipirina (BOOBIS et al., 1981 ; DANHOF et al., 1982 ; HUFFMAN et al., 1973 ; ROBSON et al., 1987, 1988a,b). La lomefloxacin, otra fluoroquinolona, no afecta el metabolismo de la teofilina (LEBEL et al., 1990), hecho que se explica con la hipótesis de que son los 4-oxometabolitos de las fluoroquinolonas los que inhiben el metabolismo de la teofilina (WIJNANDS et al., 1986). La lomefloxacin, a diferencia de la ciprofloxacina, enrofloxacin y norfloxacina, no forma 4-oxometabolito.

También el fármaco antimicrobiano fluoroquinolona norfloxacina puede interaccionar con el metabolismo de la teofilina (HO et al., 1988 ; DAVIS et al., 1989), pero este efecto parece ser de menor grado en comparación con el de la ciprofloxacina (BOWLES et al., 1988). La razón del quizás posible menor efecto de la norfloxacina sobre la farmacocinética de la teofilina no está por el momento esclarecido. En el caso de la norfloxacina, en el hombre el metabolito 4-oxoquinolona es el principal producto recuperado en orina, pero sin embargo no se ha detectado en suero tras dosis tan grandes como 1.600 mg (OSAKI

et al., 1981), y este hecho podría ser diferencial para la interacción con teofilina. Por el contrario, en aves, pollos broiler, sí se ha detectado el metabolito oxonorfloxacina (ANADON et al., 1992). De cualquier forma, se admite que interacciones potencialmente significativas pueden ocurrir entre las más nuevas fluoroquinolonas y otros fármacos que se metabolizan por isoenzimas del citocromo P450 hepático.

El presente estudio claramente demuestra, en el perro, que tanto el fármaco ciprofloxacina como la enrofloxacina y la norfloxacina, ambos, son capaces de inhibir el metabolismo oxidativo de la antipirina ; el clearance plasmático total disminuyó un 12 % , 28 % y 20 % por el tratamiento de ciprofloxacina, enrofloxacina y norfloxacina, respectivamente ; así mismo, la vida media aumentó un 44 % , 56 % y 32 % ; el tiempo medio de residencia aumentó un 38 % , 57 % y 34 % ; y el area bajo la curva de niveles plasmáticos aumentó un 14 % , 33 % y 23 % , respectivamente. Según nuestros resultados, de las tres fluoroquinolonas estudiadas, la enrofloxacina es la que muestra un mayor efecto sobre la disposición de la antipirina. Esta interacción observada en nuestro estudio de las fluoroquinolonas, ciprofloxacina, enrofloxacina y norfloxacina, con la antipirina podría ser adjudicada vía dos mecanismos diferentes : a) a la hipótesis ya establecida de que estas fluoroquinolonas, vía su 4-oxometabolito, compiten con las isoenzimas del citocromo P450 hepático requeridas a su vez también para el metabolismo de la antipirina, y b) a que estas fluoroquinolonas se comporten como inhibidores enzimáticos,

es decir disminuyan la actividad del sistema oxidasa hepático de función mixta implicado tanto en su propio metabolismo como en el de la antipirina.

De todos los datos obtenidos en el presente estudio, nosotros sugerimos que :

- las fluoroquinolonas ciprofloxacina, enrofloxacin y norfloxacina, poseen capacidad potencial para originar interacciones farmacocinéticas de significancia toxicológica cuando se coadministren con otros fármacos;

- con estas fluoroquinolonas se espera un amplio uso en medicina veterinaria por su amplio espectro de actividad antimicrobiana y sus favorables perfiles farmacocinéticos que permiten una administración oral a intervalos prolongados de dosificación; aunque por el momento, en principio, la experiencia clínica preliminar en medicina veterinaria ha demostrado que son relativamente bien toleradas con una baja incidencia de efectos adversos, existe evidencia científica para indicar que no deben ser administradas concomitantemente con fármacos que sufran metabolismo en hígado por el sistema oxidasa de función mixta;

- particularmente, en perros con infecciones broncopulmonares donde frecuentemente se requiere coadministración de un fármaco antimicrobiano junto con el broncodilatador teofilina debe tomarse gran precaución para la seguridad de uso de estas fluoroquinolonas; las fluoroquinolonas

ciprofloxacina, enrofloxacin y norfloxacina poseen potencial para aumentar la toxicidad de la teofilina (por aumentar sus niveles plasmáticos); si la administración simultánea de teofilina y fluoroquinolonas como la ciprofloxacina, enrofloxacin y norfloxacina es necesaria, se recomienda disminuir en un 50 % la dosis de teofilina antes de iniciar el tratamiento con estos agentes antimicrobianos, e incluso monitorizar las concentraciones plasmáticas de teofilina diariamente;

- las fluoroquinolonas ciprofloxacina, enrofloxacin y norfloxacina también deben administrarse con precaución en perros jóvenes y en perros bajo condiciones de enfermedad hepática y renal.

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

1) Se ha estudiado, en un conjunto de 18 perros machos sanos, la influencia de las fluoroquinolonas ciprofloxacina, enrofloxacina y norfloxacina sobre la cinética de disposición de la antipirina, evaluando también la influencia sobre las actividades de las enzimas plasmáticas fosfatasa alcalina, aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y gamma-glutamilttransferasa (γ -GT) y sobre la concentración plasmática de urea, bilirrubina total y creatinina.

2) Se ha determinado el comportamiento farmacocinético del compuesto antipirina tras dosis única i.v. de 20 mg/kg, antes y tras el tratamiento con ciprofloxacina (dosis orales de 30 mg/kg), enrofloxacina (dosis orales de 30 mg/kg) y norfloxacina (dosis orales de 10 mg/kg), durante 10 días.

3) Dosis diarias orales de 30 mg/kg de ciprofloxacina y enrofloxacina, durante 10 días, originan una disminución estadísticamente significativa de las actividades de las enzimas plasmáticas fosfatasa alcalina, AST, ALT y γ -GT.

4) Dosis diarias orales de 10 mg/kg de norfloxacina, durante 10 días, originan una disminución estadísticamente significativa de las actividades de las enzimas plasmáticas fosfatasa alcalina, AST y ALT.

5) Las concentraciones plasmáticas de urea, bilirrubina total y creatinina no se vieron afectadas por el tratamiento con las fluoroquinolonas ciprofloxacina, enrofloxacin y norfloxacina.

6) La enzima plasmática más afectada significativamente ($P < 0,001$) tras el tratamiento con las fluoroquinolonas ciprofloxacina y enrofloxacin fué la enzima γ -GT, con variaciones de actividad desde 3,6 a 0,94 U/litro, y desde 3,2 a 0,85 U/litro, respectivamente.

7) Los datos de las concentraciones plasmáticas vs tiempo de la antipirina antes y tras el tratamiento con las fluoroquinolonas ciprofloxacina, enrofloxacin y norfloxacina se ajustaron adecuadamente a un modelo abierto bicompartimental para su análisis cinético.

8) Las fluoroquinolonas ciprofloxacina, enrofloxacin y norfloxacina afectaron la disposición de la antipirina. Entre otros parámetros farmacocinéticos, la vida media de eliminación ($t_{1/2\beta}$), el area bajo la curva de niveles plasmáticos (AUC), el aclaramiento plasmático total (Cl), el tiempo medio de residencia (MRT) y los volúmenes aparentes de distribución (V_B y V_{ss}) difirieron significativamente tras el tratamiento con ciprofloxacina, enrofloxacin y norfloxacina.

9) Con respecto a los parámetros farmacocinéticos de eliminación más importantes, la vida media de eliminación ($t_{1/2\beta}$) y el aclaramiento plasmático total (Cl), la ciprofloxacina aumentó significativamente la $t_{1/2\beta}$ desde valores de 1,85 a 2,87 h (44 %) y disminuyó el Cl de 0,263 a 0,232 l/kg.h (12 %); la enrofloxacinina aumentó significativamente la $t_{1/2\beta}$ desde valores de 1,84 a 2,88 h (56 %) y disminuyó el Cl de 0,270 a 0,195 l/kg.h (28 %) ; y la norfloxacina aumentó significativamente la $t_{1/2\beta}$ desde valores de 1,71 a 2,26 h (32 %) y disminuyó el CL de 0,305 a 0,245 l/kg.h (20 %).

10) Esta investigación claramente demuestra en el perro que los parámetros farmacocinéticos de la antipirina fueron alterados tras el tratamiento de las fluoroquinolonas estudiadas. Los agentes antimicrobianos ciprofloxacina, enrofloxacinina y norfloxacina son capaces de inhibir el metabolismo oxidativo del compuesto antipirina.

11) Los agentes antimicrobianos, fluoroquinolonas ciprofloxacina, enrofloxacinina y norfloxacina poseen capacidad potencial para originar interacciones farmacocinéticas, de significancia toxicológica, cuando se administran concomitantemente con otros fármacos que sufren metabolismo en hígado por el sistema oxidasa de función mixta, ya que pueden comportarse como inhibidores enzimáticos ó bien como competidores por las enzimas hepáticas metabolizantes de fármacos.

BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFIA

- ABIKO, T., ISHIHAMA, A., OGAWA, N., UCHIDA, H., MURAYAMA, S., HIRAI, K., OOMORI, Y., ABE, Y & IRIKURA, T. (1981). Phase I study on AM-715. *Chemotherapy*, 29, 136-145.
- ADHAMI, Z.N., WISE, R., WESTON, D. & CRUMP. B. (1984). The pharmacokinetics and tissue penetration of norfloxacin. *J. Antimicrob. Chemother.*, 13, 87-92.
- AOYAMA, H., SATO, K., FUJII, T., FUJIMAKI, K. & MITSUHASHI, S. (1988). Purification of *Citrobacter freundii* DNA gyrase and inhibition by quinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 32(1), 104-109.
- AIGNER, K.R. & DALHOFF, A. (1986). Penetration activities of ciprofloxacin into muscle, skin and fat following oral administration. *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, 644-645.
- ALANIS, A. & WEINSTEIN, A.V. (1983). Adverse reactions associated with the use of oral penicillins and cephalosporins. *Med. Clin. North Am.*, 67, 113-129.
- ALDRIDGE, K.E., SCHIRO, D.D., TSAI, L., JANNEY, A., SAUNDERS, C.V. (1985). Ciprofloxacin (Bay o 9867) an in vitro comparison with other broad spectrum antibiotics. *Curr. Ther. Res.*, 37, 754-762.
- ALTREUTHER, P. (1987). Datos sobre química y toxicología del Baytril. *Not. Med. Vet.*, 2/87, 87-89
- ANADON, A. (1983). Enzyme induction and inhibition. In *Veterinary Pharmacology and Toxicology*. Ruckebush, Y., Toutain, P.L. & Koritz, G.D. (Eds.). MTP Press Limited, Lancaster, U.K., pp. 523-537.
- ANADON, A. (1992). Les fluoroquinolones: aspects pharmacologiques et toxicologiques. *Bull. Academie Vet. France*, 65, 207-216.
- ANADON, A., DIEZ, M.J., SIERRA, M., SANCHEZ, J.A. & TERAN, M.T. (1988). Microsomal enzyme induction by permethrin in rats. *Vet. Hum. Toxicol.*, 30 (40), 309-312.
- ANADON, A. et MARTINEZ-LARRANAGA, M.R. (1990a). Facteurs affectant la toxicité des ionophores anticoccidiens chez la volaille. *Rev. Med. Vet.*, 141(1), 17-24.
- ANADON, A. et MARTINEZ-LARRANAGA, M.R. (1991). Toxicologie des antibiotiques ionophores carboxyliques chez le porc. *Rev. Med. Vet.*, 142(2), 115-124.

- ANADON, A., MARTINEZ-LARRANAGA, M.R., DIAZ, M.J., BRINGAS, P. & FERNANDEZ, M.C. (1991). Effect of deltamethrin on antipyrine pharmacokinetics and metabolism in rat. *Arch. Toxicol.*, 65, 156-159.
- ANADON, A. & MARTINEZ-LARRANAGA, M.R. (1992). Pharmacology and Toxicology of Quinolones. In *Recent Developments in Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology*. Sunshine, I. (Ed.). Marcel Dekker, Inc., New York. Chapter 30, pp. 193-198.
- ANADON, A., MARTINEZ-LARRANAGA, M.R., DIAZ, M.J. & BRINGAS, P. (1989). Effect of tiamulin on antipyrine kinetics in chickens. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 12, 94-98.
- ANADON, A., MARTINEZ-LARRANAGA, M.R., DIAZ, M.J., VELEZ, C. & BRINGAS, P. (1990b). Pharmacokinetic and residue studies of quinolone compounds and olaquinox in poultry. *Ann. Rech. Vet.*, 21, Suppl., 1, 137s-144s.
- ANADON, A., MARTINEZ-LARRANAGA, M.R., FERNANDEZ, M.C., DIAZ, M.J. & BRINGAS, P. (1990c). Effect of ciprofloxacin on antipyrine pharmacokinetics and metabolism in rats. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34, 2148-2151.
- ANADON, A., MARTINEZ-LARRANAGA, M.R., VELEZ, C., DIAZ, M.J. & BRINGAS, P. (1992). Pharmacokinetics of norfloxacin and its N-desethyl- and oxo-metabolites in broiler chickens. *Am. J. Vet. Res.* 53 (11), 2084-2089.
- APPELBAUM, P.C., SPANGLER, S.K. & SOLLENBERGER, L. (1986). Susceptibility of non-fermentative Gram-negative bacteria to ciprofloxacin, norfloxacin, amifloxacin, pefloxacin and cefpirone. *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, 675-679.
- ARCIERI, G., AUGUST, R., BECKER, N., DOYLE, C., GRIFFITH, E., GRUENWALDT, G., HEYD, A. & O'BRIEN, B. (1986). Clinical experience with ciprofloxacin in the USA. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 3, 220-225.
- ARCIERI, G., GRIFFITH, E., GRUENWALDT, G., HEYD, A., O'BRIEN, B., BECKER, N., AUGUST, R. (1987). Ciprofloxacin: an update on clinical experience. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 381-386.
- ARONOFF, G.E., KENNER, C.H., SLOAN, R.S., POTTRATZ, S.T. (1984). Multiple-dose ciprofloxacin kinetics in normal subjects. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 36, 384-388.

- AUCKENTHALER, R., MICHEA-HAMZEHPUR, M., PECHERE, J.C. (1986). In vitro activity of newer quinolones against aerobic bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, 17, Suppl., B, 29-39.
- AZADIAN, B.S., BENDING, J.W.A. & SAMSON, D.M. (1986). Emergence of ciprofloxacin resistant **Pseudomonas aeruginosa** after combined therapy with ciprofloxacin and amikacin. *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, 771.
- AZNAR, J., CABALLERO, M.C., LOZANO, M.C., DE MIGUEL C., PALOMARES, J.C. & PEREA, E.J. (1985). Activities of new quinolone derivatives against genital pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 27(1), 76-78.
- BACHMANN, K.A., SCHWARTZ, J.I. & JAUREGUI, L. (1988). Predicting the ciprofloxacin-theophylline interaction from single plasma theophylline measurements. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 26, 191-194.
- BAGGOT, J.D. (1977). Principles of drug disposition in domestic animals: The Basic of Veterinary Clinical Pharmacology. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- BAILEY, R.R., KIRK, J.A. & PEDDIE, B.A. (1989). Norfloxacin-induced rheumatic disease. *New Zel. Med. J.*, 2, 590.
- BALL, A.P. (1986). Ciprofloxacin: an overview of adverse experiences. *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, Suppl., D, 187-193.
- BALL, A.P. FOX, C., BALL, M.E., BROWN, I.R.F. & WILLIS, J.V. (1986). Pharmacokinetics of oral ciprofloxacin, 100 mg single dose, in volunteers and elderly patients. *J. Antimicrob. Chemother.*, 17, 629-635.
- BARAN, R. & BRUN, P. (1986). Photoonycholysis induced by the fluoroquinolones pefloxacin and ofloxacin. *Dermatologica*, 173, 185-188.
- BARRY, A.L. & JONES, R.N. (1984). Cross-resistance among cinoxacin, ciprofloxacin, DJ-6783, enoxacin, nalidixic acid, norfloxacin and oxolinic acid after in vitro selection of resistant populations. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 25(6), 775-777.

- BARRY, A.L., JONES, R.N., THORNSBERRY, C., AYERS, L.W., GERLACH, E.H. & SOMMERS, H.M. (1984). Antibacterials activities of ciprofloxacin, norfloxacin, oxolinic acid, cinoxacin and nalidixic acid. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 25(5), 633-637.
- BATY, J.D. & PRICE-EVANS, D.A. (1973). Norphenazone, a new metabolite of phenazone in human urine. *J. Pharm. Pharmacol.*, 25, 83-84.
- BAYER, A., GAJEWSKA, A., STEPHENS, M., MARSHAL-STARK, J. & PATHY, J. (1987). Pharmacokinetics of ciprofloxacin in the elderly. *Respiration*, 51, 292-295.
- BAUDITZ, R. (1987). Resultados de la comprobación clínica con Baytril en el perro y en el gato. *Not. Med. Vet.* 2/87, 137-140.
- BECKMAN, J., ELSÄBER, W. & GUMBERT-BEMY, W. (1987). A potent inhibitor of theophylline metabolism. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 33, 227-230.
- BEDARD, J., WONG, S. & BRYAN, L.E. (1987). Accumulation of enoxacin by *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 1348-1354.
- BEERMANN, D., SCHOLL, H., WINGENDER, W., FORSTER, D., BEUBLER, E. & KUROVETZ, W.R. (1986). Metabolism of ciprofloxacin in man. *Neu, H.C. & Weuta, H. (Eds.)*, 1st International Ciprofloxacin Workshop, Leverkusen 1985, Elsevier Science Publ., Amsterdam, pp. 141-146.
- BEKERSKY, I., MAGGIO, A.C., MATTALIANO, V., BOXENBAUM, H.G. Jr., MAYNARD, D.E., COHN, P.D. & KAPLAN, S.A. (1977). Influence of phenobarbital on the disposition of clonazepam and antipyrine in the dog. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 5(5), 507-512.
- BERGAN, T. & THORNSTEINSSON, S.B. (1985). Pharmacokinetics of ciprofloxacin. *Neu H.C. & Weuta H. (Eds.)*. 1st International Ciprofloxacin Workshop, Leverkusen. Elsevier Science Publ., Amsterdam, pp. 111-121.
- BERGAN, T., DELINM C., JOHANSEN, S., KOLSTAD, T.M., NORD, C.E. & THORSTEINSSON, S.B. (1986a). Pharmacokinetics of ciprofloxacin and effect of repeated dosage on salivary and faecal microflora. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29, 298-302.

- BERGAN, T., ENGESET, A., OLSZESWIKI, W., OSTBY, N. & SOLBERG, R. (1986b). Pharmacokinetics of ciprofloxacin in peripheral lymph and skin blisters. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5, 458-461.
- BERGAN, T., THORSTEINSSON, S.B., KOLSTAD, I.M. & JOHANSEN, S. (1986c). Pharmacokinetics of ciprofloxacin and increasing oral doses. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5, 187-192.
- BERGAN, T., THORSTEINSSOM, S.B., SOLBERG, R., BJORNSKOU, L., KOLSTAD, I.M. & JOHANSEN, S. (1987). Pharmacokinetics of ciprofloxacin: intravenous and increasing oral doses. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 97-102.
- BERGOGNE-BEREZIN, E., BERTHELOT, G., EVEN, P., STERN, M & REYNAUD, P. (1986). Penetration of ciprofloxacin into bronchial secretions. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5, 197-200.
- BOEREMA, J.B.J., DALHOFF, A. & DEBRUYNE, F.M.Y. (1985). Ciprofloxacin distribution in prostatic tissue and fluid following oral administration. *Chemotherapy*, 31, 13-18.
- BOOBIS, A.R., BRODIE, M.J., KAHN, G.C., FLETCHER, D.R., SAUNDERS, J.H. & DAVIES, D.S. (1980). Monooxygenase activity of human liver in microsomal fractions of needle biopsy specimens. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 9, 11-19.
- BOOBIS, A.R., BRODIE, M.J., KAHN, G.C., TOVERUD, E.L., BLAIR, I.A., MURRAY, S. & DAVIES, D.S. (1981). Comparison of the *in vivo* rates of formation of the three main oxidative metabolites of antipyrine in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 12, 771-777.
- BORNER, H., HÖFFKEN, G., LODE, H., KOEPPE, P., PRINZING, C., GLATZEL, P., WILEY, R., OLSCHESKI, R., SIEVERS, B. & REINITZ, P. (1986a). Pharmacokinetics of ciprofloxacin in healthy volunteers after oral and intravenous administration. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5, 179-186.
- BORNER, K., LODE, H. & HÖFFKEN, G. (1986b). Renal elimination of sulpho-ciprofloxacin, a new metabolite of ciprofloxacin. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5, 476.
- BORNER, K., LODE, H., HÖFFKEN, G., PRINZING, C., GLATZEL, P. & WILEY, R. (1986c) Liquid chromatographic determination of ciprofloxacin and some metabolites in human body fluids. *J. Clin. Chem. Biochem.* 24, 325-331.

- BOSCH, J., LINARES, H., LOPEZ DE GOICOECHEA, M.J. ARIZA, J., CISNAL, M.C. & MARTIN, R. (1986). In vitro activity of ciprofloxacin, ceftriaxone and five other antimicrobial agents against 95 strains of *Brucella melitensis*. J. Antimicrob. Chemother., 17, 459-461.
- BOWLES, S.K., POPOVSKI, Z., RYBAK, M.J., BECKMAN, H.B. & EDWARDS, D.J. (1988). Effect of norfloxacin on theophylline pharmacokinetics at steady state. Antimicrob. Agents Chemother., 32(4), 510-512.
- BRANCH, R.A., SHAND, D.G., WILKINSON, G.R. & NIES, A.S. (1974). Increased clearance of antipyrine and d-propranolol after phenobarbitone treatment in the monkey. J. Clin. Invest., 53, 1101-1107.
- BRAUNER, G.J. (1975). Bullous photoreaction to nalidixic acid. Am. J. Med., 58, 576.
- BRITAIN, D.C., SCULLY, B.E., McELRATH, M.J., STEINMAN, R. LABTHAVIKUL, P. & NEU, H.C. (1985). The pharmacokinetics and serum and urine bactericidal activity of ciprofloxacin. J. Clin. Pharmacol., 25, 82-88.
- BRINKMAN, H.J. & HENGSTMANN, J.H. (1976). Spezifische methodik zur bestimmung von phenazon in biologischen flüssigkeiten. Arzneim.-Forsch./Drug Res., 26, 483-484.
- BRODIE, B.B. & AXELROD, J. (1950). The fate of antipyrine in man. J. Pharmacol. Exp. Ther., 98, 97-104.
- BROUWERS, J.R., VAN DER KAM, H.J., SIJTSMA, J. & KOKS, C.M. (1989). Important drug interaction of oral ciprofloxacin with sucralfate and magnesium citrate solution. Pharm. Weekblad (Sci.) II, Suppl., E, 13.
- BRUMFITT, W., FRANKLIN, I., GRADY, D., HAMILTON-MILLER, J.M.T. & ILIFFE, A. (1984). Changes in the pharmacokinetics of ciprofloxacin and fecal flora during administration on a 7-day course to human volunteers. Antimicrob. Agents Chemother., 26, 757-761.
- BRYAN, L.E., BEDARD, J., WONG, S. & CHAMBERLAND, S. (1989). Quinolone antimicrobial agents: mechanism of action and resistance development. Clin. Invest. Med., 12, 14-19.
- BRYANT, R.E. & HARSTEIN, A.I. (1987). Oral ciprofloxacin in refractory Gram-negative bacillary infections. Int. J. Clin. Pharm. Res., 7, 187-194.

- BURMAN, L.G. (1977). R-plasmid transfer and its response to nalidixic acid. *J. Bacteriol.*, 131, 76-81.
- BUSTAMANTE, C.I., DRUSANO, G.L., WHARTON, R.C. & WADE, J.C. (1987). Synergism of combinations of imipenem plus amikacin against ***Pseudomonas aeruginosa*** and other antibacterial pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 632-634.
- CASAL, M., RODRIGUEZ, F., VILLALBA, R., BENAVENTE, M.C. & GONZALEZ, A.I. (1987). In vitro susceptibility of ***Mycobacterium fortuitum***, ***Mycobacterium chelonae***, and ***Mycobacterium avium*** against some quinolones. *Chimioterapia*, 6, 431-433.
- CHALKLEY, L.J. & KOORNHOF, H.J. (1985). Antimicrobial activity of ciprofloxacin against ***Pseudomonas aeruginosa***, ***Escherichia coli*** and ***Staphylococcus aureus*** determined by the killing curve method: antibiotic comparisons and synergistic interactions. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 28, 331-342.
- CHANDLER, M.H.H., TOLER, S.M., RAPP, R.P., MUDER, R.R. & KORVICK, J.A. (1990). Multiple-dose pharmacokinetics of concurrent oral ciprofloxacin and rifampicin in elderly patients. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34, 442-447.
- CHAPMAN, S.T., SPELLER, D.C.E. & REEVES, D.S. (1985). Resistance to ciprofloxacin. *Lancet*, 2, 39.
- CHAU, P.Y., LEUNG, Y.K. & NG, W.S. (1986). Comparative in vitro antibacterial activity of ofloxacin and ciprofloxacin against some selected Gram-positive and Gram-negative isolates. *Infeccion*, 14, Suppl., 4, 237-239.
- CHIN, N.X. & NEU, H.C. (1984). Ciprofloxacin, a quinolone carboxylic acid compound active against aerobic and anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 25, 319-326.
- CHRIST, W., LEHNERT, T. & ULBRICH, B. (1988). Specific toxicologic aspects of the quinolones. *Rev. Infect. Dis.*, 10, Suppl., 1, 5141-5146.
- CLARKE, A.W., ZEMOW, E.J.V. & CAMPBELL, M.E. (1985). In vitro activity of pefloxacin compared to enoxacin, norfloxacin, gentamicin and new β -lactams. *J. Antimicrob. Chemother.*, 15, 39-44.

- COLLINS, C.H. & UTTLEY, H.C. (1985). **In vitro** susceptibility of mycobacteria to ciprofloxacin. *J. Antimicrob. Chemother.*, 16, 575-580.
- CORNAGLIA, G., POMPEL, R., DAINELLI, B. & SATTÀ, G. (1987). **In vitro** activity of ciprofloxacin against aerobic bacterial isolated in a Southern Europe hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 1651-1655.
- CORRADO, M.L., STRUBLE, W.E., PETER, C. (1987). Norfloxacin review of safety studies. *Am. J. Med., Suppl.*, B, 22-26.
- COURVALIN, P. (1990). Plasmid-mediated 4-quinolone resistance: a real or apparent absence ?. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34, 681-684.
- CROOK, S.M., SELKON, J.B. & McLARDY SMITH, P.D. (1985). Clinical resistance to long-term oral ciprofloxacin. *Lancet*, 1, 1275.
- CRUMLIN, G.C., KENWRIGHT, M. & HIRST, T. (1984). Investigations into the mechanism of action of the antibacterial agent norfloxacin. *J. Antimicrob. Chemother.*, 13, Suppl., B, 9-23.
- CRUMLIN, G.C. & SMITH, J.T. (1975). Nalidixic acid an antibacterial paradox. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 8, 251-254.
- CULLMANN, W., STIEGLITZ, M., MAARS, B. & OPFERKUCH, W. (1985). Comparative evaluation of recently developed quinolone compounds with a note on the frequency of resistant mutants. *Chemotherapy*, 31, 19-28.
- DAN, M., VERBIN, N., GOREA, A., NAGAR, H. & BERGER, S.A. (1987). Concentration of ciprofloxacin in human liver, gallbladder and bile after oral administration. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 31, 217-218.
- DANHOF, M., DE GROOT-VAN DER VIS, E. & BREIMER, D.D. (1979a). Assay of antipyrine and its primary metabolites in plasma, saliva and urine by high-performance liquid chromatography and some preliminary results in man. *Pharmacology*, 18, 210-223.
- DANHOF, M., KROM, D.P. & BREIMER, D.D. (1979b). Studies on the different metabolic pathways of antipyrine in rats: influence of phentobarbital and 3-methylcholanthrene treatment. *Xenobiotica*, 9, 695-702.

- DANHOF, M., VERBEEK, R.M.A., VAN BOXTEL, C.J., BOEIJINGA, J.K. & BREIMER, D.d. (1982). Differential effects of enzyme induction on antipyrine metabolite formation. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 13, 379-386.
- DASCHNER, F.D., WESTENFELDER, M. & DALHOFF, A. (1986). Penetration of ciprofloxacin into kidney, fat, muscle and skin tissue. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5, 212-213.
- DAVIES, S., SPARHAM, P.D. & SPENCER, C. (1987). Comparative in vitro activity of five fluoroquinolones against mycobacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, 19, 605-609.
- DAVIS, B.D. (1987). Mechanism of bactericidal action of aminoglycosides. *Microbiol. Rev.*, 51, 341-350.
- DAVIS, R.L., KOUP, J.R., WILLIAMS-WARREN, J., WEBWE, A. & SMITH, A.L. (1984). Pharmacokinetics of three oral formulations of ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 28, 74-77.
- DAVIS, R.L., KELLY, H.W., QUENZER, R.W., STANDEFER, J., STEINBERG, B. & GALLEGOS, J. (1989). Effect of norfloxacin on theophylline metabolism. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 33(2), 212-214.
- DELMEE, M. & AVESANI V. (1986). Comparative in vitro activity of seven quinolones against 100 clinical isolates of **Clostridium difficile**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29, 374-375.
- DEPELCHIN, B.O., BLODEN, S. & ANSAY, M. (1987). Antipyrine disposition in calves. I. effects of some drugs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*
- DIEZ, W.H., COOK, T.M. & GOSS, W.A. (1966). Mechanism of action of nalidixic acid on **Escherichia coli**. III. Conditions required for lethality. *J. Bacteriol.*, 91, 768-773.
- DRUSANO, G.L. (1987). An overview of the pharmacology of intravenously administered ciprofloxacin. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 339-345.
- DRUSANO, G.L., PLAISANCE, K.I., FORREST, A. & STANDIFORD, H.C. (1986a). Dose ranging study and constant infusion evaluation of ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 30, 440-443.

- DRUSANO, G.L., STANDIFORD, H.C., PLAISANCE, R.I., FORREST, A., LESLIE, J. & CALDWELL, J. (1986b). Absolute oral bioavailability of ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 30, 444-446.
- DRUSANO, G.L., WEIR, H., FORREST, A., PLAISANCE, K.I., EMM, T. & STANDIFORD, H.C. (1987) Pharmacokinetics of intravenously administered ciprofloxacin in patients with various degrees of renal function. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 860-864.
- DUDLEY, H.N., ERICSON, J. & ZINNER, S.H. (1987) Effect of dose on serum pharmacokinetics of intravenous ciprofloxacin with identification and characterization of extravascular compartments using noncompartmental and compartmental pharmacokinetics models. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 1782-1786.
- EANDI, M., VIAND, I., DINOLA, F., LEONE, L. & GENAZZANI, E. (1983). Pharmacokinetics of norfloxacin in healthy volunteers and in patients with renal and hepatic damage. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 2, 253-259.
- EDLUND, C. & NORD, E.C. (1986). Comparative in vitro activities of ciprofloxacin, enoxacin, norfloxacin, ofloxacin and pefloxacin against **Bacteroides fragilis** and **Clostridium difficile**. *Scand. J. Infect. Dis.*, 18, 149-151.
- EICHELBAUM, M. & SPAHNBRUCKER, N. (1977). Rapid and sensitive method for the determination of antipyrine in biological fluids by high pressure liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 140, 288-292.
- ELIOPOULUS, G.M., GARDELLA, A. & MOELLERING, R.C. (1984). In vitro activity of ciprofloxacin, a new carboxyquinolone antimicrobial agent. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 25, 331-335.
- ERON, L.J., HARVEY, L., HIXON, D.L. & PORETZ, D.M. (1985). Ciprofloxacin therapy of infection caused by **Pseudomonas aeruginosa** and other resistant bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 28, 308-310.
- ESCALANTE, A., AZNAR, J., DE MIGUEL, C., & PEREA, E.J. (1985) Activity of nine antimicrobial agents against **Mycoplasma hominis** and **Ureaplasma urealyticum**. *Eur. J. Sex. Trans. Dis.*, 2, 85-87.

- ESPOSITO, S., GALANTE, D., BARBA, D., D'ERRICO, G. & MAZZONE, A. (1987). Ciprofloxacin concentrations in human fluids and tissues following a single oral dose. *Int. J. Pharm. Res.*, 7, 181-186.
- FARREL, G.C, COOKSLEY, W.G.E. & POWELL, L.W. (1979). Drug metabolism in liver disease: activity of hepatic microsomal enzymes. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 26, 483-492.
- FASS R.J. (1983). In vitro activity of ciprofloxacin (Bay o 9867). *Antimicrob. Agents Chemother.*, 25, 568-574.
- FELMINGHAM, D., O'HARE, M.D., ROBBINS, M.J., WALL, R.A. & WILLIAMS, A.H. (1985) Comparative in vitro studies with 4-quinolone antimicrobials. *Drug Exp. Clin. Res.*, 11, 317-329.
- FENLON, C.H. & CINAMON M.H. (1986). Comparative in vitro activities of ciprofloxacin and other 4-quinolones against **Mycobacterium tuberculosis** and **Mycobacterium intracellulare**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29, 386-388.
- FERN, A.I., SWEENEY, G., DOIG, M. & LINDSAY, G. (1986). Penetration of ciprofloxacin into aqueous humor. *Trans. Ophthalmol. Soc. U.K.*, 105, 650-652.
- FERNANDEZ-ROBLAS, R., PRIETO, S., SANTAMARIA, M., PONTE, C. & SORIANO, F. (1987). Activity of nine antimicrobial agents against **Corynebacterium** group D₂ strains isolated from clinical specimens and skin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 821-822.
- FLEMING, L.W., MORELAND, T.A., STEWARD, W.K. & SCOTT, A.C. (1986). Ciprofloxacin and antacids. *Lancet*, 2, 249.
- FLIEGELMAN, R.M., PETRAK, R.M., GOODMAN. L.J., SEGRETI. J., TRENHOLME, G.M., & KAPLAN, R.L. (1985). Comparative in vitro activities of twelve antimicrobial agents against **Campylobacter** species. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 27, 429-430.
- FLOYD-REISING, S.A., KELLEY, S.G., HINDLER, J.A. & YOUNG, L.S. (1987). In vitro activity of CI-934 compared with ciprofloxacin, enoxacin, norfloxacin and vancomycin. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 6, 301-306.

- FOLLATH, F., BINDSCHEDLER, M., WENK, M., FREI, R., STALDER, H. & REBER, H. (1986). Use of the ciprofloxacin in the treatment of **Pseudomonas aeruginosa** infections. Eur. J. Clin. Microbiol., 5, 236-240.
- FONG, I.G., LEDBETTER, VAN DER BROUCKE, C., SIMBUL, M. & RAHM, V. (1985). Ciprofloxacin concentrations in bone and muscle after oral dosing. Antimicrob. Agents Chemother., 29, 405-408.
- FRIEDMAN, D.I., PLANTEFABER, L.C., OLSON, E. J., CARVER, D., O'DEA, M.H. & GELLERT, M. (1984). Mutations in the DNA *gyrB* gene that are temperature sensitive for lambda site-specific recombinations, Mu growth and plasmid maintenance. J. Bacteriol., 157, 490-497.
- FROST, R.W., LETTIERI, K., NOE, A., SHAMBLIN, E.C. & LASSETER, K. (1989). Effect of aluminium hydroxide and calcium carbonate antacids on ciprofloxacin bioavailability. Clin. Pharmacol. Ther., 45, 165..
- FU, K.P., HETZEL, N., GREGORY, F.J. & HUNG, P.P. (1987). Therapeutic efficiency of cefpiramide-ciprofloxacin combinations in experimental **Pseudomonas** infections in neutropenic mice. J. Antimicrob. Chemother., 20, 541-546.
- GALTEAU, M.M. & SCHIELE, F. (1982). Measurement of plasma G.G.T. activities and standardisation. In Gammaglutamyltransferases: Advances in Biochemical Pharmacology 3rd Series. Siest, G. & Heusghem, C. (Eds.). Paris: Masson, pp. 127-132.
- GALTEAU, M.M., SIEST, G. & RATANASAVANH, D. (1980). Effect of phenobarbital on the distribution of G.G.T. between hepatocytes and non parenchymal cells in the rat. Cellular Mol. Biol., 26, 267-273.
- GARLANDO, F., TAUBER, M.G., JOOS, B., GELZ, O. & LÖTHY, R. (1985). Ciprofloxacin-induced hematuria. Infection, 13, 177-178.
- GAU, W., KURZ, J., PETERSEN, U., PLOSCHKE, H.J. & WUENSCH, C. (1986). Isolation and structural elucidation of urinary metabolites of ciprofloxacin. Arzneim.-Forsch./Drug Res., 36, 1545-1549.

- GAY, J.D., DeYOUNG, D.R. & ROBERTS, G.D. (1984). In vitro activities of norfloxacin and ciprofloxacin against **Mycobacterium tuberculosis**, **M. avium complex**, **M. chelonae**, **M. fortuitum** and **M. ransasii**. Antimicrob. Agents Chemother., 26, 94-96.
- GELLERT, M., MIZUUCHI, K., O'DEA, H., ITOH, T. & TOMIZAWA, J. (1977). Nalidixic acid resistance: A second genetic character involved in DNA gyrase activity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 4772-4776.
- GEORGE, A.M. & LEVY, S.B. (1983). Gene in the major cotransduction gap of **Escherichia coli K 12** linkage map required for the expression of chromosomal resistance to tetracycline and other antibiotics. J. Bacteriol., 155, 541-548.
- GIAMARELLOU, H., DAPHNIS, E., GALANAKIS, N., DENDRINOS, Ch. & PETRIKKOS, G. (1985). Ciprofloxacin in the treatment of Gram-negative infections including **Pseudomonas aeruginosa**. 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto, Japan.
- GIAMARELLOU, H. & GALANAKIS, N. (1987). Use of intravenous ciprofloxacin in difficult-to-treat infections. Am. J. Med., 82, Suppl., 4A, 346-351.
- GIAMARELLOU, H. & PETRIKKOS, G. (1987). Ciprofloxacin interactions with imipenem and amikacin against multiresistant **Pseudomonas aeruginosa**. Antimicrob. Agents Chemother., 31, 959-961.
- GIBALDI, M., NAGASHIMA, R. & LEVY, G. (1969). Relationship between drug concentration in plasma or serum and amount of drug in the body. J. Pharm. Sci., 58, 193-197.
- GOBERNADO, M., CANTON, E. & SANTOS, M. (1984). In vitro activity of ciprofloxacin against **Brucella melitensis**. Eur. J. Clin. Microbiol., 3, 371.
- GOLPER, T.A., HORTSFEIN, A.I., MORTHLAND, V.M. & CHRISTENSEN, J.M. (1987). Effects of antacids and dialysate dwell times on multiple doses pharmacokinetics of oral ciprofloxacin in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. Antimicrob. Agents Chemother., 31, 1787-1790.

- GOMBERT, M.E. & AULICINO, T.M. (1984). Susceptibility of multiply antibiotic-resistant **pneumococci** to the new quinolone antibiotics, nalidixic acid, coumermycin and novobiocin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 26, 933-934.
- GONZALEZ, M.A., MORANCHEL, A.H., DURAN, S., PICHARDO, A. & MAGANA, J.L. (1985a). Multiple dose ciprofloxacin dose ranging and kinetics. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 37, 633-637.
- GONZALEZ, M.A., MORANCHEL, A.H., DURAN, S., PICHARDO, A. & MAGANA, J.L. (1985b). Multiple dose pharmacokinetics of ciprofloxacin administered intravenously to normal volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 28, 235-239.
- GOORMAANS, E., DALHOFF, A., KAZZAZ, B. & BRANOLTE, J. (1986). Penetration of ciprofloxacin into gynecological tissues following oral and intravenous administration. *Chemotherapy*, 32, 7-77.
- GOOSENS, H., DE MOL, P., COIGNAU, H., LEVY, J. & GRADOS, O. (1985). Comparative in vitro activities of aztreonam, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, HR 810 (a new cephalosporin), RU 28965 (a new macrolide), and other agents against enteropathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 27, 386-392.
- GOOS, W.A., DIETZ, W.H. & COOK, T.M. (1965). Mechanism of action of nalidixic acid on **Escherichia coli**. II. Inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis. *J. Bacteriol.*, 89, 1068-1074.
- GOOTZ, T.D., BARRETT, J.F. & SUTCLIFFE, J.A. (1990). Inhibitory effects of quinolone antibacterial agents on eucaryotic topoisomerases and related test systems. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34, 8-12.
- GREENBERG, R.N., KENNEDY, D.J., REILLY, P.M., LUPPEN, K.L., WEINANDT, W.J., BOLLINGER, M.R., AGUIRRE, F., KODESCH, F. & SAEED, A.M.K. (1987). Treatment of bone joint and soft-tissue infections with oral ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 151-155.
- GREENBERG, R.N., TILE, A.D., MARSH, P.K., CRAVEN, P.C., REILLY, P.M., BOLLINGER, M. & WEINADT, W. (1987b). Randomized trial of ciprofloxacin compared with other antimicrobial therapy in the treatment of osteomyelitis. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 266-269.

- GREENWOOD, D. (1983). Activity of newer quinolones against **Legionella** group organism. *Lancet*, *ii*, 279-280.
- HART, C.A., HOW, S.J. & HOBSON, D. (1984). Activity of ciprofloxacin against genital tract pathogens. *Br. J. Vener. Dis.*, 60, 316-318.
- HEALY, D.P., POLK, R.E., KAMAWAKA L., ROCK, D.T. & MOONEY, M.L. (1989). Interaction between oral ciprofloxacin and caffeine in normal volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 33, 474-478.
- HEALY, D.P., POLK, R., KANAWAKA, L., ROCK, D., MOONEY, M. & BUCH, A. (1987). Pharmacokinetic interaction between oral ciprofloxacin and caffeine in normal volunteers. 27th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, New York.
- HILDEBRANDT, A.G., ROOTS, I., SPECK, M., SAALFRANK, K. & KEWITZ, H. (1975). Evaluation of **in vivo** parameters of drug metabolising enzymes activity in man after administration of clemastine, phenobarbital or placebo. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 8, 327-336.
- HIRAI, K., AOYAMA, H., IRIKUR, T., IYOBE, S. & MITSUMASHI, S. (1986a). Differences in susceptibility to quinolones of outer membrane mutants of **Salmonella typhimurium** and **Escherichia coli**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29, 535-538.
- HIRAI, K., AOYAMA, H., IRIKUR, T., IYOBE, S. & ITHASHI, S. (1986b). Isolation and characterization of norfloxacin-resistant mutants of **Escherichia coli K 12**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 30, 248-253.
- HIRATA, C.A.I., GUAY, D.R.P., AWNI, W.M., STEIN, D.J. & PETERSON, P.K. (1989). Steady-state pharmacokinetics of intravenous and oral ciprofloxacin in elderly patients. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 33, 1927-1931.
- HO, G., TIERNEY, M.G. & DALES, R.E. (1988). Evaluation of the effect of norfloxacin on the pharmacokinetics of theophylline. *Clin. Pharmacol. ther.*, 44, 35-38.
- HODSON, M.E., ROBERTS, C.M., BUTLAND, R.J.A., SMITH, M.J. & BATTEN, J.C. (1987). Oral ciprofloxacin compared with conventional intravenous treatment for **Pseudomonas aeruginosa** infection in adults with cystic fibrosis. *Lancet*, 1, 235-237.

- HÖFFKEN, G., LODE, H., PRINZING, C., BORNER, K. & KOEPPE, P. (1985a). Pharmacokinetics of ciprofloxacin after oral and parenteral administration. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 27, 375-379.
- HÖFFKEN, G., BORNER, K., GLATZEL, P.D., KOEPPE, P. & LODE, H. (1985b). Reduced internal absorption of ciprofloxacin in the presence of antacids. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 4, 345.
- HÖFFKEN, G., LODE, H., WILEY, R., GLATZEL, P.D., SIEVENS, D., OLSCHERWSKI, T., BORNER, K. & KOEPPE, T. (1988). Pharmacokinetics and bioavailability of ciprofloxacin and ofloxacin: effect of food and antacid intake. *Rev. Infect. Dis.*, 10, Suppl., 1, 138-139.
- HÖFFLER, D., DALHOFF, A., GAU, W., BEERMANN, D. & MICHI, A. (1984). Dose and sex-independent disposition of ciprofloxacin. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 3, 363-366.
- HÖFFLER, U. (1986). In vitro sensitivity of **Bacteroidaceae**, **Clostridia**, and **Propionibacteria** to newer antimicrobial agents. *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, Suppl., E, 41-46.
- HOLMES, B., BROGDEN, R.N. & RICHARDS, D.M. (1985). Norfloxacin: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetics, properties and therapeutic use. *Drugs*, 30, 482-513.
- HOOPER, D.C. & WOLFSON, J.S. (1985). The fluoroquinolones: pharmacology, clinical uses and toxicities in human. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 28, 716-721.
- HOOPER, D.C. & WOLFSON, J.S. (1988). Mode of action of the quinolone antimicrobial agents. *Rev. Infect. Dis.*, 10, Suppl., 1, S14-S26.
- HOOPER, D.C., WOLFSON, J.S., NG, E.Y. & SWARTZ, M.N. (1987). Mechanism of action and resistance to ciprofloxacin. *J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 12-20.
- HOOPER, D.C., WOLFSON, J.S., SOUZA, K.S., TUNG, C., MCHUGH, G.L. & SWARTZ, M.N. (1986). Genetic and biochemical characterization of norfloxacin resistance in **Escherichia coli**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29, 639-644.

- HREBENDA, R.H.J., HELESZKO, H., BROZSTEK, K. & BIELECKI, J. (1985). Mutation affecting resistance of *Escherichia coli* K12 to nalidixic acid. *J. Gen. Microbiol.*, 131, 2285-2292.
- HUFFMAN, D.H., SHOEMAN, D.W., PENTIKAINEN, P. & AZARNOFF, D.L. (1973). The effect of spironolactone on antipyrine metabolism in man. *Pharmacology*, 10, 338-344.
- HUFFMAN, D.H., SHOEMAN, D.W. & AZARNOFF, D.L. (1974). Correlation of the plasma elimination of antipyrine and the appearance of 4-hydroxyantipyrine in the urine of man. *Biochem. Pharmacol.*, 23, 197-201.
- HUMPHREYS, H. & MULVIHILL, E. (1985). Ciprofloxacin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*, 1, 1047.
- HUSSY, P., MAASS, G., TUMMLER, B., GROSSE, F. & SCHOMBURG, U. (1986). Effect of 4-quinolones and novobiocin on calf thymus DNA polymerase α -primase complex, topoisomerases I and II, and growth of mammalian lymphoblasts. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29, 1073-1078.
- INOUE, Y., SATO, K., FUJII, T., HIRAI, K., INOUE, M., IYOBE, S. & MITSUHASHI, S. (1987). Some properties of subunits of DNA gyrase from *Pseudomonas aeruginosa* PA01 and its nalidixic acid-resistant mutant. *J. Bacteriol.*, 169, 2322-2325.
- INOUE, S., YAMAGISHI, J., NAKAMURA, S., FURUTANI, Y. & SHIMIZU, M. (1982). Novel nalidixic acid-resistance mutations relating to DNA gyrase activity. In *Drug Resistance in Bacteria*. Mitsuhashi, S. (Ed.). Thieme-Stratton, Inc., New York, pp. 411-414.
- INOUE, S., OHUE, T., YAMAGISHI, J., NAKAMURA, S. & SHIMIZU, M. (1978). Mode of incomplete cross-resistance among pipemidic, piromidic and nalidixic acids. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 14, 240-245.
- IWASAWA, T. (1981). Fundamental and clinical studies of AM-715 in the otorrhinolaryngologic field. *Chemotherapy (Tokyo)*, 29, Suppl., 4, 714-729.
- JAEHDE, U., SÖRGE, E., NABER, K.G., REITER, A., SEEIMANN, R. & SIGL, G. (1989). Gastrointestinal secretion of ciprofloxacin in healthy volunteers. 29th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Houston, Texas. American Society for Microbiology, 202.

- JAFFE, A., CHABBERT, Y.A. & SEMONIN, O. (1982). Role of porin proteins Omp F and Omp C in the permeation of β -Lactams. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 22, 942-948.
- JANKNEGT, R. (1990). Drug interaction with quinolones. *J. Antimicrob. Chemother.*, 26, Suppl., D, 7-29.
- JOOS, B., LEDERBERGER, B., FLEPP, M., BETEX, J.D., LOTHY, R. & SIEGENTHALER, W. (1985). Comparison of high liquid chromatography and bioassay for determination of ciprofloxacin in serum and urine. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 27, 353-356.
- KAPLOWITZ, N., AW, T.Y., SIMON, F.R. & STOLZ, A. (1986). Drug-induced hepatotoxicity. *Ann. Intern. Med.*, 104, 826-839.
- KAYSER, F.M. (1985). The quinolones: mode of action and mechanism of resistance. *Res. Clin. Forums*, 7, 17-27.
- KELLEY, S.G., BERTRAM, M.A. & YOUNG, L.S. (1986). Activity of ciprofloxacin against resistant clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother.*, 17, 281-286.
- KING, A. & PHILLIPS, I. (1986). The comparative in vitro activity of eight newer quinolones and nalidixic acid. *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, Suppl., D, 1-20.
- KLIETMANN, W., FOCHT, J. & NÖSNER, K. (1987). Comparative in vitro activity of ciprofloxacin against aerobic and anaerobic bacteria from clinical isolates. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 37, 661-666.
- KOBAYASHI, H. (1985). Summary of clinical studies on ciprofloxacin efficacy and adverse reactions. 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto, Japan.
- KREUZER, K.N. & COZZARELLI, N.R. (1979). *Escherichia coli* mutants thermosensitive for deoxyribonucleic acid gyrase subunit A: effects on deoxyribonucleic acid replication, transcription and bacteriophage growth. *J. Bacteriol.*, 140, 424-435.
- KROL, G.J., NOE, A.J. & BEERMAN, D. (1986). Liquid chromatographic analysis of ciprofloxacin and ciprofloxacin metabolites in body fluids. *J. Liquid Chromatogr.*, 9, 2897-2919.

- KRONBACH, T., FISCHER, V. & MEYER, V.A. (1988). Cyclosporine metabolism in human liver: identification of a cytochrome P-450 III gene family as the major cyclosporine-metabolizing enzyme explains interactions of cyclosporine with other drugs. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 43, 630-635.
- KRYSZEWSKI, A.J., NEALE, G., WHITFIELD, J.B. & MOSS, D.W. (1973). Enzyme changes in experimental biliary obstruction. *Clin. Chim. Acta*, 47, 175-182.
- LAGAST, H., HUSSON, M. & KLASTERSKY, J. (1985). Bactericidal activity of ciprofloxacin in serum and urine against **Escherichia coli**, **Pseudomonas aeruginosa**, **Klebsiella pneumonia**, **Staphylococcus aureus** and **Streptococcus faecalis**. *J. Antimicrob. Chemother.*, 16, 341-347.
- LAWLEY, T.J., BIELORY, L., GASCON, P., YANCEY, K., YOUNG, N. & FRANK, M. (1984). A prospective clinical and immunologic analysis of patients with serum sickness. *N. Engl. J. Med.*, 311, 1407-1413.
- LE GOFFIC, F. (1985). Les quinolones, mechanisme d'action. In *Les nouvelles Quinolones*. Pocardalo, J.J., Vachon, F., Regnier, B. (Eds.). Editions Arnette, Paris, pp. 15-23.
- LEBEL, M. (1988). Ciprofloxacin: Chemistry, mechanism of action, resistance, antimicrobial spectrum, pharmacokinetics, clinical trials and adverse reactions. *Pharmacotherapy*, 2(1), 3-33.
- LEBEL, M., BARBEAU, G., BERGERON, M.G., ROY, D. & VALLEE, F. (1986a). Pharmacokinetics of ciprofloxacin in elderly subjects. *Pharmacotherapy*, 6, 87-91.
- LEBEL, M., VALLEE, F. & BERGERON, M.G. (1986b). Tissue penetration of ciprofloxacin after single and multiple doses. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29, 501-505.
- LEBEL, M., VALLEE, F. & ST-LAURENT, M. (1990). Influence of lomefloxacin on the pharmacokinetics of theophylline. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34(6), 1254-1256.
- LEDERGERBER, B., BETTEX, J.D., JOOS, B., FLEPP, M. & LUTHY, R. (1985). Effect of standard breakfast on drug absorption and multiple dose pharmacokinetics of ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 27, 350-352.

- LEFROCK, J.L., SMITH, B.R. & BIHL-DONATO, J. (1986). Ciprofloxacin: a comparative study of in vitro antimicrobial activity. *Curr. Ther. Res.*, 39, 789-797.
- LEIGH, D.A., EMMANUEL, F.X.S. & PETCH, V.J. (1986). Ciprofloxacin therapy in complicated urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* and other resistant bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, Suppl., D, 117-121.
- LEWIN, C.S. & SMITH, J.T. (1989). Interactions of the 4-quinolones with other antibacterials. *J. Med. Microbiol.*, 29, 221-227.
- LEYSEN, D.C., HAEMERS, A. & PATTYN, S.R. (1989). Mycobacteria and the new quinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 33, 1-5.
- LICITRA, C.M., BROOKS, R.G. & SIEGLER, B.E. (1987). Clinical efficacy and levels of ciprofloxacin in tissue in patients with soft tissue infection. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 805-807.
- LIEBOWITZ, L.D., SAUNDERS, J., FEHLER, G., BALLARD, R.C. & KOORNHOF, H.J. (1986). In vitro activity of A-56619 (difloxacin), A-50620, and other new quinolone antimicrobial agents against genital pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 30, 948-950.
- LIN, R.Y. (1986). Serum sickness syndrome. *Am. Fam. Physician*, 157, 157-162.
- LINDGREN, S., COLLSTE, P., NORLANDER, B. & SJÖQVIST, F. (1974). Gas chromatographic assessment of the reproductibility of phenazone plasma half-life in young healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 7, 381-385.
- LODE, H., STUHLERT, P., DEPPERMAN, K., MAINZ, S. & BORNER, K. (1989). Pharmacokinetic interaction between oral ciprofloxacin, ofloxacin and ferro-salts. 29th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Houston, Texas. American Society for Microbiology, 213.
- LODE, H., WILEY, R., HÖFFKEN, G., WAGNER, J. & BORNER, K. (1987). Prospective randomized controlled study of ciprofloxacin versus imipenem-cilastatin in severe clinical infections. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 491-496.

- LU, A.Y.H. & WEST, S.B. (1980). Multiplicity of mammalian cytochromes P450. *Pharmacol. Rev.* 31, 277-295.
- LUDWIG, E., SZEKELY, E., CSIBA, A. & GRABER, H. (1988). The effect of ciprofloxacin on antipyrine metabolism. *J. Antimicrob. Chemother.*, 22, 61-67.
- LUTHY, R., JOOS, B. & GASSMANN, F. (1986). Penetration of ciprofloxacin into the human eye. *Meu H.C. & Weuta H. (Eds.). 1st International Ciprofloxacin Workshop, Leverkusen 1985, Elsevier Science Publ., Amsterdam, pp. 192-196.*
- LUDWIG, E., SZEKELY, E., CSIDA, A. & GRABER, H. (1988). The effect of ciprofloxacin on antipyrine metabolism. *J. Antimicrob. Chemother.*, 22, 61-67.
- MACHIDA, M., KUSAJIMA, H., AIJIMA, H., MAEDA, A., ISHIDA, R. & UCHIDA, H. (1990). Toxicokinetic study of norfloxacin-induced arthropathy in juvenile animals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 105, 403-412.
- MANOHARAN, M., SORGEL, F. & WAGNER, T. (1985). The analysis of quinolones and their metabolites by high pressure liquid chromatography. *Arch. Pharm.*, 329, Suppl., R, 10.
- MARINIS, E. & LEGAKIS, N.J. (1985). In vitro activity of ciprofloxacin against clinical isolates of mycobacteria resistant to antimycobacterial drugs. *J. Antimicrob. Chemother.*, 16, 765-773.
- MARTINEZ-LARRANAGA, M.R., DIAZ, M.J., FERNANDEZ, M.C., BRINGAS, P., FERNANDEZ-CRUZ, M.L. & ANADON, A. (1992). Effect of flumethrin (an alfa-cyano pirethroid) on *in vivo* hepatic microsomal enzymes and antipyrine metabolite formation in rats. *Toxicol. Letters, Suppl.*, 126-127.
- MATSUMOTO, K., SUZUKI, H. & TSUCHIAHASHI, K. (1981). Laboratory and clinical studies on AM-715. *Chemotherapy (Tokyo)*, 29, Suppl., 4, 370-379.
- MAYER, D.G. (1987). Overview of toxicological studies. *Drugs*, 34, Suppl., 1, 150-153.
- McQUEEN, C.A. & WILLIAMS, G.M. (1987). Effects of quinolone antibiotics in test for genotoxicity. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 94-96.

- MEFFIN, P.J., WILLIAMS, R.L., BLACHKE, T.F. & ROWLAND, M. (1977). Application of salivary concentration data to pharmacokinetic studies with antipyrine. *J. Pharmacol. Sci.*, 66, 135-139.
- MEHTAR, S., BLAKEMORE, P.H. & ELLIS, K. (1987). Brief report: in vitro curing of plasmids from multi-drug-resistant **Serratia marcescens** by ciprofloxacin. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 55-57.
- MEHTAR, S., DRABU, Y. & BLAKEMORE, P. (1986). Ciprofloxacin in the treatment of infections caused by gentamicin-resistant Gram-negative bacteria. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5, 248-251.
- MEIER-EWART, H., WEIL, G. & MILLOT, G. (1983). In vitro activity of norfloxacin against **Chlamydia trachomatis**. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 2, 271.
- MELCION, C. & CORDIER, A. (1986). Absence of genotoxicity to mammalian cells. International Symposium on New Quinolones, Geneva.
- MICHEL-BRIAND, Y., UCELLI, V., LAPORTE, J.M. & PLESIAT, P. (1986). Elimination of plasmids from **Enterobacteriaceae** by 4-quinolone derivatives. *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, 667-674.
- MILLER, R.V. & SCURLOCK, T.R. (1983). DNA gyrase (topoisomerase II) from **Pseudomonas aeruginosa**. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 110, 694-700.
- MOORHOUSE, R.C., MULVIHILL, T.E., JONES, L., MOONEY, D. & FALKINER, F.R. (1985). The in vitro activity of some antimicrobial agents against methicillin-resistant **Staphylococcus aureus**. *J. Antimicrob. Chemother.*, 15, 291-295.
- MORELAND, T.A., PARK, B.K. & RYLANCE, G.W. (1982). Microsomal enzyme induction in children : the influence of carbamazepine treatment on antipyrine kinetics , 6-beta-hydroxycortisol excretion and plasma gamma-glutamyltranspeptidase activity. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 14, 861-865.
- MORRAN, C., McARDLE, C., PETTITT, L., SLEIGH, D., GEMMELL, C. & HICHENS, M. (1989). Pharmacokinetics of orally administered ciprofloxacin in abdominal surgery. *Am. J. Med.*, 87, Suppl., 5A, 86-88.

- MULLIGAN, M.E., RUANE, P.J., JOHNSTON, L., WONG, P., WHEELOCK, J.P., MacDONALD, K., REINHARDT, J.F., JOHNSON, C.C., STATNER, B., BLOMQUIST, I., McCARTHY, J., O'BRIEN, W., GARDNER, S., HAMMER, L., & CITRON, D.M. (1987). Ciprofloxacin for eradication of methicillin-resistant **Staphylococcus aureus** colonization. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 215-219.
- MUNSHI, M.H., HAIDER, K., RAHAMAN, M.M., SACK, D.A., AHMED, Z.U. & MORSHED, M.G. (1987). Plasmid-mediated resistance to nalidixic acid in **Shigella dysenteriae** Type 1. *Lancet*, 2, 419-421.
- MURPHY, P.G. & FERGUSON, W.P. (1987). **Corynebacterium jeikeium** (Group J.K.) resistance to ciprofloxacin emerging during therapy. *J. Antimicrob. Chemother.*, 20, 922-923.
- NAKAGAWA, K., WATANABE, K. & KOYANA, M. (1981). Clinical study on AM-715. *Chemotherapy (Tokyo)*, 29, Suppl., 4, 220-234.
- NAKAMURA, S., INOUE, S., SHIMIZU, M., IYOBE, S. & MITSUHASHI, S. (1976) Inhibition of conjugal transfer of R plasmids by pipemidic acid and related compounds. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 10, 779-785.
- NAKANISHI, S. & OKUNO, H. (1990). Comparison of inhibitory effects of new quinolones on drug metabolizing activity in the liver. *Japan J. Pharmacol.*, 53, 81-96.
- NEER, T.M. (1988). Clinical pharmacologic features of fluoroquinolones antimicrobial drugs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 193, 577-580.
- NEU, H.C. (1987). New antibiotic areas of appropriate use. *J. Infec. Dis.*, 155, 403-415.
- NEU, H.C. & LABTHAVIKUL, P. (1982). In vitro activity of norfloxacin, a quinolone carboxylic acid compared with that of β -lactams, aminoglycosides and trimethoprim. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 22, 23-27.
- NEWSON, S.W.B. (1984). The antimicrobial spectrum of norfloxacin. *J. Antimicrob. Chemother.*, 13, Suppl., B, 25-31.
- NIEMAND, H.G. et SUTER, P.F. (1992). *Pratique de la Clinique Canine*. Vigot, Paris. Chapitre 29, Annexes, pp. 748-749.

- NILSSON-EHLE, I. (1987). Assay of ciprofloxacin and norfloxacin in serum and urine by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 416, 207-211.
- NIX, D.E., De VITO, J.M., WHITEBREAD, M.A. & SCHENTAG, J.J. (1986). Effect of multiple dose oral ciprofloxacin on the pharmacokinetics of theophylline and in docyanine green. *J. Clin. Pharmacol.*, 24, 545.
- NIX, D.E., WILTON, J.H., SCHENTAG, J.J., PARPIA, S.H., NORMAN, A. & GOLDSTEIN H.R. (1989). Inhibition of ciprofloxacin absorption by antacids and sucralfate. *Rev. Infect. Dis.*, II, Suppl., 5, 1096.
- NORBY, S.R. & JONSSON, M. (1983). Antibacterial activity of norfloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 23, 15-18.
- NOUWS, J.F.M., MEVIUS, D.J., VREE, T.B., BAARS, A.M. & LAURENSEN, J. (1988). Pharmacokinetics, renal clearance and metabolism of ciprofloxacin following intravenous and oral administration to calves and pigs. *Vet. Quart.*, 10(3), 156-163.
- OHNHAUS, E.E., CONINX, S., RAMOS, M. & NOELPP, U. (1976). Liver blood flow and enzyme induction in man. *Eur. J. Clin. Invest.*, 6, 325.
- ORKO, R., ROSENBERG, P.H. & HIMBERG, J.J. (1988). Intravenous infusion of midazolam, propofol and vecuronium in a patient with severe tetanus. *Acta Anaesth. Scand.*, 32, 590-592.
- ORLOWSKI, M. (1963). The role of gamma-glutamyl transpeptidase in the internal diseases clinic. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 11, 1-61.
- OSAKI, T., UCHIDA, H. & IRIKURA, T. (1981). Studies on metabolism of AM-715 in humans by high performance liquid chromatography. *J. Antimicrob. Chemother.*, 29, 128-135.
- PAIGEN, B., WARD, E. STEENLAND, K., BALONOWSKA, W., GESSNER, T., CHANG, R.L., WOOD, A.W. & CONNEY, A.H. (1982). Absence of seasonal variation in antipyrine metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 31, 144-150.

- PANKEY, G.A., VALAINIS, G.T., KATNER, H.P., CORTEZ, L.M. & DALOVISIO, J.R. (1985). *Pseudomonas aeruginosa* infections treated with ciprofloxacin. 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto, Japan, pp. 38-92.
- PARRY, M.F. (1985). The in vitro activity and clinical role of ciprofloxacin: observations during treatment of patients with systemic and urinary tract infections due to Gram-negative bacilli. 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto, Japan, 50S.
- PARRY, M.F., FOLTA, D., NOSSEK, H., ANDERSON, M., AZZARELLO, L., HOLMES, D., JACOB, R., McELREE, S., SABATO, S., TATTON, B. & WELCH, B. (1985). Comparative activity of ciprofloxacin and other new agents against 1454 clinical isolates at a community hospital. *Curr. Ther. Res.*, 38, 755-761.
- PARRY, M.F., SMEGO, D.A. & DIGIOVANNI, M.A. (1988). Hepatobiliary kinetics and excretion of ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 32, 982-985.
- PATSALOS, P.N., DUNCAN, J.S. & SHORVON, S.D. (1988). Effect of the removal of individual antiepileptic drugs on antipyrine kinetics in patients taking polytherapy. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 26, 253-259.
- PELKONEN, O., SOTANIEMI, E., TOKOLA, O. & AHOKAS, J.T. (1980). Correlations between cytochrome P-450 and oxidative metabolism of benz[a]pyrene and 7-ethoxycoumarin in human liver *in vitro* and antipyrine elimination *in vivo*. *Drug Metab. Disp.*, 8, 218-222.
- PETRI, H. & TRONNIER, H. (1986). Efficacy of enoxacin in the treatment of bacterial infections of the skin with regards to photosensitisation. *Infection*, 14, Suppl., 3, S213-S216.
- PICCOLOMINI, R. & RAVAGNAN, G. (1986). Comparative in vitro activity of ciprofloxacin (Bay o 9867) and other antimicrobial agents against urinary bacterial isolates. *Chemioterapia*, 5, 249-256.
- PIDDOCK, L.J.V., WIJNANDS, W.J.A. & WISE, R. (1987). Quinolone/Ureidopenicillin cross-resistance. *Lancet*, 2, 907.

- PLAISANCE, K.I., DRUSANO, G.L., FORREST, A., BUSTAMENTE, C.I. & SATNDIFORD, H.C. (1987). Effect of dose size on bioavailability of ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 956-958.
- POLK, R. (1989). Drug-interactions with ciprofloxacin and other fluoroquinolones. *Am. J. Med.*, 87, Suppl., 5A, 76-81.
- POLK, R.E., HEALY, D.P., SAHAI, J., DRWAI, L. & RACHT, E. (1989). Effect of ferrous sulfate and multivitamins with zinc on absorption of ciprofloxacin in normal volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 33, 1841-1844.
- PRABHALA, R.H., RAO, B., MARSHALL, R., BANSAL, M.B. & THADEPALLI, H. (1984). In vitro susceptibility of anaerobic bacteria to ciprofloxacin (Bay o 9867). *Antimicrob. Agents Chemother.*, 26, 785-786.
- PREHEIM, L.C., CUEVAS, T.A., ROCCAFORTE, J.S., MELLENCAMP, M.A. & BITTNER, M.J. (1986). Ciprofloxacin and antacids. *Lancet*, 2, 48.
- PREHEIM, L.C., CUEVAS, T.A., ROCCAFORTE, J.S., MELLENCAMP, M.A. & BITTNER M.J. (1987). Oral ciprofloxacin in the treatment of elderly patients with complicated urinary tract infections due to trimethoprim/sulfamethoxazole-resistant bacteria. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 295-300.
- PRESCOTT, L.F., ADJEPON-YAMOAK, K.K. & ROBERTS, E. (1973). Rapid gas-liquid chromatographic estimation of antipyrine in plasma. *J. Pharm. Pharmacol.*, 25, 205-207.
- PUGSLEY, A.P. & SCHNAITMAN, C.A. (1978). Outer membrane proteins of *Escherichia coli* VII. Evidence that bacteriophage directed protein 2 functions as a pore. *J. Bacteriol.*, 133, 1181-1189.
- RAEBURN, J.A., GOVAN, J.R.W., McCRANE, W.N., GREENING, A.P. & COLLIER, P.S. (1987). Ciprofloxacin therapy in cystic fibrosis. *J. Antimicrob. Chemother.*, 20, 295-296.
- RAOOF, S., WOLLSCHAGER, C. & KHAN, F. (1987). Ciprofloxacin increases serum levels of theophylline. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 115-118.

- RATANASAVANH, D., TAZI, A., GALTEAU, M.M. & SIEST, G. (1979). Localisation of gamma-glutamyltransferase in subcellular fractions of rats and rabbit liver: effect of phenobarbital. *Biochem. Pharmacol.*, 28, 1363-1365.
- REEVES, E.C.B. & SUTTIE, D.R. (1968). Chromosomal location of a mutation causing chloramphenicol resistance in **Escherichia coli K 12**. *Gen. Res.*, 11, 97-104.
- REEVES, D.S., BYWATER, M.J., HOLT, H.A. & WHITE, L.O. (1984). In vitro studies with ciprofloxacin, a new 4-quinolone compound. *J. Antimicrob. Chemother.*, 13, 333-346.
- REINHARDT, J.F. & GEORGE, W.L. (1985). Comparative in vitro activities of selected antimicrobial agents against **Aeromonas** species and **Plesiomonas shigelloides**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 27, 643-645.
- RHODES, J.C. & HOUSTON, J.B. (1983). Antipyrine metabolite kinetics in phentobarbital and β -naphthoflavone induced rats. *Drug Metab. Dispos.*, 11, 131-136.
- RIDGWAY, G.L., MUMTAZ, G., GABRIEL, F.G. & ORIEL, J.D. (1984). The activity of ciprofloxacin and other 4-quinolones against **Chlamydia trachomatis** and **Mycoplasmas** in vitro. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 3, 344-346.
- ROBERTS, C.M., BATTEN, T. & HODSON, M.E. (1985). Ciprofloxacin resistant **Pseudomonas**. *Lancet*, 1, 1492.
- ROBILLARD, N.J. & SCARPA, A.L. (1988). Genetic and physiological characterization of ciprofloxacin resistance in **Pseudomonas aeruginosa** PAO. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 32, 535-539.
- ROBSON, R.A., BEGG, E.J., ATKINSON, H.C., SAUNDERS, D.A. & FRAMPTON, C.M. (1990). Comparative effects of ciprofloxacin and lomefloxacin on the oxidative metabolism of theophylline. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 29, 491-493.
- ROBSON, R.A., MATTHEWS, A.P., MINERS, J.O., McMANUS, M.E., MEYER, U.A., HALL, P.M. & BIRKETT, D.J. (1987). Characterisation of theophylline metabolism in human liver microsomes. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 24, 293-300.
- ROBSON, R.A., MINERS, J.O. & BIRKETT, D.J. (1988a). Selective inhibitory effects of nifedipine and verapamil on oxidative metabolism: effects on theophylline. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 25, 397-400.

- ROBSON, R.A., MINERS, J.O., MATTHEWS, A.P., STUPANS, I., MELLER, D., McMANUS, M.R. & BIRKETT, D.J. (1988b). Characterisation of theophylline metabolism by human liver microsomes. Inhibition and Immunochemical Studies. *Biochem. Pharmacol.*, 9, 1651-1659.
- ROSALKI, S.B. & RAU, D. (1972). Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity and alcoholism. *Clin. Chim. Acta*, 39, 41-47.
- ROSALKI, S.B., TARLOW, D. & RAU, D. (1971). Plasma gamma-glutamyl transpeptidase elevation in patients receiving-inducing drugs. *Lancet*, ii, 376-377.
- ROY, C., FOZ, A., SEGURA, C., TIRADO, M., TEIXELL, M. & TERVEL, D. (1983). Activity of ciprofloxacin (BAY o 9867) against **Pseudomonas aeruginosa** and ampicillin-resistant **Enterobacteriaceae**. *Infection*, 11, 326-328.
- RUBENSTEIN, E., MARK, Z., SAMRA, Y., ALKAN, M. & BERGER, S. (1986). In vitro activity of ciprofloxacin compared with other agents against recent hospital isolates. *Chemioterapia*, 5, 75-82.
- RUBENSTEIN, E. & SEGEV, S. (1987). Drug interaction of ciprofloxacin with other non-antibiotic agents. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 119-123.
- SAHAI, J., HEALY, D., STOTKA, J. & POLK, R. (1989). Influence of chronic administration of calcium on the bioavailability of oral ciprofloxacin. 29th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Houston, Texas, American Society for Microbiology, 211.
- SAITO, A., KOGA, H., SHIGENO, H., WATANABE, K., MORI, K. & KOHNO, S. (1986). The antimicrobial activity of ciprofloxacin against **Legionella** species and the treatment of experimental **Legionella pneumonia** in guinea pigs. *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, 251-260.
- SAITO, T., YAMADA, Y. & ARAI, T. (1981). Studies of AM-715: Biliary excretion, tissue concentration of the liver and gallbladder wall and clinical evaluation in surgical field. *Chemotherapy (Tokyo)*, 29, 631-638.
- SALH, B. & WEBB, A.K. (1987). Ciprofloxacin resistance. *Lancet*, 1, 749-750.

- SANDERS, C.C., SANDERS, W.E., GOERING, R.V. & WERNER, V. (1984). Selection of multiple antibiotic resistance by quinolones, β -lactams and aminoglycosides with special reference to cross-resistance between unrelated drug classes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 26, 797-801.
- SANDERS, C.C. & WATANAKUNAKORN, C. (1986). Emergence of resistance to β -lactams, aminoglycosides and quinolones during combination therapy for infection due to *Serratia marcescens*. *J. Infect. Dis.*, 153, 617-619.
- SANSON-LE PORS, M.J., CASIN, I.M., THEBAULT, M.C., ARLET, G. & PEROL, V. (1986). In vitro activities of U-63366, a spectinomycin analog; roxithromycin (RU 28965), a new macrolide antibiotic; and five quinolone derivatives against *Haemophilus ducreyi*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 30, 512-513.
- SARKAR, M., POLK, R.E., GUZELIAN, P.S., HUNT, C. & KARNES, M.T. (1990). In vitro effect of fluoroquinolones on theophylline metabolism in human liver microsomes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34, 594-599.
- SATO, K., INOUE, Y., FUJII, T., AOYAMA, M., INOUE, M. & MITSUNASHI, S. (1987). Purification and properties of DNA gyrase from a fluoroquinolone resistant strain of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 30, 777-780.
- SAUERWEIN, D., BAUERNFEIND, A. & PETERMÜLLER, C. (1985). Clinical and bacteriological evaluation of ciprofloxacin in treatment of UTIs of para- and tetraplegic patients. 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto, Japan.
- SCHACHT, P., ARCIERI, G., BRANOLTE, J., BRUCK, H. & CHYSKY, V. (1988). Worldwide clinical data on efficacy and safety of ciprofloxacin. In *Ciprofloxacin Clinical Monograph*. Neu, H. C. (Ed.), ADIS Press International Ltd., Manchester, 69-70.
- SCHACHT, P., BRUCK, H., CHYSKY, V., HULLMANN, R. & WEUTA, H. (1985). Overall clinical results with ciprofloxacin. 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto, Japan.
- SCHACHT, P. & MULLMANN, R. (1986). Development of resistance during phase II and III clinical trials with ciprofloxacin. Congress on Bacterial and Parasitic Drugs Resistance, Bangkok.

- SCHACHT, P. & MULLMANN, R. (1987). Changes of susceptibility of infecting organism to ciprofloxacin during treatment. Biennial Conference on Chemotherapy of Infectious Diseases and Malignancies, Munich, 15.
- SCHENTAG, J.J. & DOMAGALA, J.M. (1985). Structure-activity relationship with the quinolone antibiotics. Res. Clin. Forums, 7, 9-15.
- SCHEER, M (1987a). Estudios sobre la actividad antimicrobiana de Baytril. Not. Med. Vet., 2/87, 90-99.
- SCHEER, M. (1987b). Concentraciones de sustancia activa en el suero y en los tejidos despues de la administracion oral y parenteral de Baytril. Not. Med. Vet. 2/87, 104-118.
- SCHELENKOFF, D., DALHOFF, A., KNOPF, J. & OPFERKUCH, W. (1986). Penetration of ciprofloxacin into human lung tissue following intravenous injection. Infection, 14, 299-300.
- SCHLÜTER, G. (1986). Toxicology of ciprofloxacin. 1st International Ciprofloxacin Workshop. Leverkusen, FRG, 1985. Neu, H.C. & Weuta, H. (Eds.), Elsevier Science Publ., Amsterdam, pp. 61-70.
- SCHLÜTER, G. (1989). Ciprofloxacin: Toxicologic evaluation of additional safety data. Am. J. Med., 87, Suppl., 5A, 375-385.
- SCHLÜTER, S. (1987). Ciprofloxacin: a review of potential toxicologic effects. Am. J. Med., 82, Suppl., 4A, 91-93.
- SCHOLL, H., SCHMIDT, K. & WEBER, B. (1987) Sensitive and selective determination of picogram amounts of ciprofloxacin and its metabolites in biological samples using high performance liquid chromatography and photothermal post-column derivatization. J. Chromatogr., 416, 321-330.
- SCHÜPPEL, R. (1968). Pharmakokinetische Untersuchungen an der alkoholisierten Ratte; math.-naturwiss. Diss., Tübingen.
- SCHWARZ, J., JAUREGUI, L., LETTIERI, J. & BACHMANN, K. (1988). Impact of ciprofloxacin on theophylline clearance and steady-state concentrations in serum. Antimicrob. Agents Chemother., 32, 75-77.

- SCULLY, B.E. & NEU, H.C. (1986). Ciprofloxacin therapy of infection caused by multiply resistant bacteria other than ***Pseudomonas aeruginosa***. *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, Suppl., D, 179-185.
- SCULLY, B.E. & NEU, H.C. (1987). Treatment of serious infections with intravenous ciprofloxacin. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 369-375.
- SEGEV, S., RUBENSTEIN, E., SHICK, J., RABINOVITCH, O. & DOLITSKY, M. (1986). Penetration of ciprofloxacin into female pelvic tissues. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5, 207-209.
- SEGEV, S., REHAVY, M. & RUBENSTEIN, E. (1987). Quinolones, theophylline and diclofenac interactions with the CNS GABA receptor. 27th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, New York.
- SEGEV, S., REHAVI, M. & RUBENSTEIN, E. (1988). Quinolones, theophylline, and diclofenac interactions with the gamma-aminobutyric acid receptor. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 32, 1624-1626.
- SETLOW, J.K., CABRERA-JUAREZ, E., ALBRITTON, W.L., SPIKES, D. & MUTSCHLER, A. (1985). Mutations affecting gyrase in ***Haemophilus influenzae***. *J. Bacteriol.*, 164, 525-534.
- SHEINER, L.B. (1981). ELSFIT a program for the extended least squares fit to individual pharmacokinetic data. A Technical Report of the Division of Clinical Pharmacology, University of California, San Francisco, CA, USA.
- SHEN, L.L. & PERNET, A.G. (1985). Mechanism of inhibition of DNA gyrase by analogues of nalidixic acid: the target for the drug is DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82 307-311.
- SHEN, L.L., BARANOWSKI, J. & PERNET, A.G. (1989a). Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: specificity and cooperativity of drug binding to DNA. *Biochem.*, 28, 3879-3885.
- SHEN, L.L., MITSCHER, L.A., SHARMA, P.N., O'DONNELL, T.J., CHU, D.W.T., COOPER, C.S., ROSEN, T. & PERNET, A.G. (1989b). Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: a cooperative drug-DNA binding model. *Biochem.*, 28, 3886-3894.

- SHIMURA, H., YAMAMOTO, H., IGIMI, H., ARIMA, S., OHKUMA, R. & KURODA, Y. (1983). Fundamental and clinical studies of norfloxacin (AM-715) in biliary tract infection. *Chemotherapy (Tokyo)*, 31, 351-367.
- SHUNGU, D.L., WEMBERG, E. & GADEBUSCH, H. (1983). In vitro activity of norfloxacin and other agents against gastrointestinal tract pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 23, 86-90.
- SIMBERKOFF, M.S. & RAHAL, J.J. (1986). Bactericidal activity of ciprofloxacin against amikacin- and cefotaxime-resistant Gram-negative bacilli and methicillin-resistant **Staphylococci**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29, 1098-1100.
- SHIMADA, J., YAMAJI, T., UEDA, Y., UCHIDA, H., KUSAJIMA, H. & IRIKURA, T. (1983). Mechanism of renal excretion of AM-715, a new quinolone carboxylic acid derivative in rabbits, dogs and humans. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 23, 1-7.
- SLAMA, T. G. (1990). Serum sickness-like illness associated with ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34, 904-905.
- SMITH, C.R. (1987). The adverse effects of fluoroquinolones. *J. Antimicrob. Chemother.*, 19, 709-712.
- SMITH, G.M., CASHMORE, C. & LEYLAND, M.J. (1985). Ciprofloxacin-resistant **Staphylococci**. *Lancet*, 2, 949.
- SMITH, J.T. (1984a). Awakening the slumbering potential of the 4-quinolone antibacterials. *Pharmaceut. J.*, 233, 299-305.
- SMITH, J.T. (1984b). Chemistry and mode of action of 4-quinolone agents. *Fortschr. Antimikrob. Antineoplast. Chemother.*, 3, 493-508.
- SMITH, J.T. (1984c). Mutational resistance to 4-quinolone antibacterial agents. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 3, 347-350.
- SMITH, J.T. (1986). The mode of action of 4-quinolones and possible mechanism of resistance. *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, Suppl., D, 21-28.

- SMITH, S.M. & ENG, R.H.K. (1985). Activity of ciprofloxacin against methicillin-resistant **Staphylococcus aureus**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 27, 688-691.
- SMITH, S.M. (1986b). In vitro comparison of A-56619, A-56620, amifloxacin, ciprofloxacin, enoxacin, norfloxacin and ofloxacin against methicillin resistant **Staphylococcus aureus**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29, 325-326.
- SNYDER, M. & DRLICA, K. (1979). DNA gyrase on the bacterial chromosome : DNA cleavage induced by oxolinic acid. *J. Mol. Biol.*, 131, 287-302.
- SOBIESKI, R.J. & BREWER, A.R. (1976). Toxicity of nalidixic acid on **Candida albicans**, **Saccharomyces cerevisiae**, and **kluveromyces lactis**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 9, 485-489.
- STAIB, A.H., HARDER, S., FUHR, U. & WACK, C. (1989). Interaction of 4-quinolones with theophylline metabolism in man: investigations with lomefloxacin and pipemidic acid. 29th Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Houston, Texas, 218.
- STAIB, A.H., STILLE, W., DIETLEIN, G., SHAN, P.M., HARDER, S., MIEKE, S. & BEER, C. (1987). Interaction between quinolones and caffeine. *Drugs*, 34, Suppl., I, 170-174.
- STILLE, W., HARDER, S., MIEKE, S., BEER, C., SHAH, P.M., FRECH, K. & STAIB, A.M. (1987). Decrease of caffeine elimination in man during co-administration of 4-quinolones. *J. Antimicrob. Chemother.*, 20, 729-734.
- STRATTON, C.W., LIN, C. & WEEKS, L.S. (1987). Activity of LY 146032 compared with that of methicillin, cefazolin, cefamandole, cefuroxime, ciprofloxacin and vancomycin against Staphylococci as determined by kill-kinetic studies. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 1210-1215.
- STUTMAN, W.R. (1987). Summary of a workshop on ciprofloxacin use in patients with cystic fibrosis. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 6, 932-935.
- SUERBAUM, S., LEYING, H., KROLL, H.P., GMEINER, J. & OPFERKUCH, W. (1987). Influence of beta-lactams antibiotics and ciprofloxacin on cell envelope of **Escherichia coli**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 1106-1110.

- SUGINO, A. & BOTT, K.F. (1980). **Bacillus subtilis** deoxyribonucleic acid gyrase. J. Bacteriol., 141, 1331-1339.
- SUGINO, A., PEEBLES, C.L., KREUZER, K.N. & COZZARELLI, N.R. (1977). Mechanism of action of nalidixic acid : purification of **Escherichia coli** nalA gene product and its relationship to DNA gyrase and a novel nicking-closing enzyme. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 4767-4771.
- SUTTER, V.L., KWOK, Y.Y. & BULKACZ, J. (1985). Comparative activity of ciprofloxacin against anaerobic bacteria. Antimicrob. Agents Chemother., 27, 427-428.
- SVENSSON, C.K. (1987). Relationship between antipyrine elimination rate constant, clearance and volume of distribution in the rat. J. Pharm. Pharmacol., 39, 838-839.
- SWANSON, B.N., BOPANA, J.K., VIASSES, P.H., ROTMENSCH, H.H. & FERGUSON, R.K. (1983). Norfloxacin disposition after sequentially increasing oral doses. Antimicrob. Agents Chemother., 23, 284-288.
- SWENSON, J.M., WALLACE, R.J., SILCOX, V.A. & THORNSBERRY, C. (1985) Antimicrobial susceptibility of five subgroups of **Mycobacterium fortuitum** and **Mycobacterium chelonae**. Antimicrob. Agents Chemother., 28, 807-811.
- SZASZ, G. (1969). A kinetic photometric method for serum gamma-glutamyl-transpeptidase. Clin. Chem., 15, 124-136.
- SZEWCZUK, A. (1966). A soluble form of gamma-glutamyl transpeptidase in human tissues. Clin. Chim. Acta, 14, 608-614.
- TAKAHATA, M. & NISHINO, T. (1988). DNA gyrase of **Staphylococcus aureus** and inhibitory effect of quinolones on its activity. Antimicrob. Agents Chemother., 32(8), 1192-1195.
- TAN, K.K.C., ALLWOOD, M.C. & SHAWKET, S. (1989a). Effect of ciprofloxacin on the pharmacokinetics of antipyrine. Br. J. Clin. Pharmacol., 28, 235p-236p.
- TAN. K.K.C., TRULL, A.K. & SHAWKET, S. (1989b). Co-administration of ciprofloxacin and cyclosporin: lack of evidence for a pharmacokinetic interaction. Br. J. Clin. Pharmacol., 28, 185-187.

- TANAKA, N. (1982). Mechanism of action of the aminoglycoside antibiotics. In Aminoglycoside Antibiotics; Handbook of Experimental Pharmacology. Hmegawa, H. & Hooper, I.R. (Eds.). Springer-Verlay, Berlin, Heidelberg, New York. Vol. 62, pp. 221-226.
- TANAKA, N., MATSUNAGA, H., YAMAKI, H. & NISHIMURA, T.K. (1984). Inhibition of inihitation of DNA synthesis by aminoglycoside antibiotics. Biochem. Biophysic. Res. Com., 122, 460-465.
- TANIMURA, H., TOMINAGA, S., RAI, F. & MATSUMOTO, h. (1986). Transfer of ciprofloxacin to bile and determination of biliary metabolites in humans. Arzneim.-Forsch./Drug Res., 36, 1417-1420.
- TARTAGLIONE, T.A., RAFFALOVICH, A.C., POYNOR, W.J., ESPINEL-INGROFF, A. & KERKERING, T.M. (1986). Pharmacokinetics and tolerance of ciprofloxacin after sequential increasing oral doses. Antimicrob. Agents Chemother., 29, 62-66.
- TAY, P.C. & DAVIS, B.D. (1985). The actions of antibiotics on the ribosome. In The Scientific Basic on Antimicrobial Chemotherapy. Greenwood, D. & O'Grady, F. (Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 45-69.
- TAYLOR D.N., CHEVERRIA, P., HANCHALAY, S., PITARANGSI, C., SLOOTMANS, L. & PIOT, P. (1985). Antimicrobial susceptibility and characterization of outer membrane proteins of **Haemophilus ducreyi** isolated in Thailand. J. Clin. Microbiol., 21, 442-444.
- TAZI, A., GALTEAU, M.M. & SIEST, G. (1980a). Effect of imipramine on hepatic gamma-glutamyl transferase in female rats. Interactions with contraceptives. Biochem., Pharmacol., 29, 2874-2876.
- TAZI, A., GALTEAU, M.M. & SIEST, G. (1980b). Gamma-glutamyltransferase of rabbit liver: kinetic study of phenobarbital induction and **in vitro** solubilization by bile salts. Toxicol. Appl. Pharmacol., 55, 1-7.
- TENNEY, J.M., MAACK, R.W. & CHIPPENDALE, G.R. (1983). Rapid selection of organisms with increasing resistance on subinhibitory concentration of norfloxacin in agar. Antimicrob. Agents Chemother., 23, 188-189.

- TEUNISSEN, M.W.E., JOERES, R.P., VERMEULEN, N.P.E. & BREIMER, D.D. (1983a). Influence of 9-hydroxyellipticine and 3-methylcholantene treatment on antipyrine metabolite formation in rat in vivo. *Xenobiotica*, 13, 223-231.
- TEUNISSEN, M.W.E., VAN GRAFT, M., VERMEULEN, N.P.E. & BREIMER, D.D. (1983b). Influence of allylisopropylacetamide and phenobarbital treatment on in vivo antipyrine metabolite formation in rats. *Xenobiotica*, 13, 497-502.
- THORSTEINSSON, S.B., BERGAN, T., JOHANNESSEN, G., THORSTEINSSON, H.S. & ROHWEDDER, R. (1987). Tolerance of ciprofloxacin at injection site, systemic safety and effect on electroencephalogram. *Chemotherapy*, 33, 448-451.
- THORSTEINSSON, S.B., BERGAN, T., ODDSDOTTIR, S., ROHWEDDER, R., & HOLM, R. (1986). Crystalluria and ciprofloxacin influence of urinary pH and hydration. *Chemotherapy*, 32, 408-417.
- TOON, S., HOPKINS, K.J., GARSTANG, F.M., AARONS, L., SEDMAN, A. & ROWLAND, M. (1987). Enoxacin-warfarin interaction: pharmacokinetic and stereochemical aspects. *Clin.Pharmacol. Ther.*, 42, 33-41.
- TORRE, D., SAMPIETRO, C., ROSSI, S., BIANCHI, W. & MAGGIOLO, F. (1989). Ciprofloxacin and activated charcoal pharmacokinetic data. *Rev. Infect. Dis.*, 11, Suppl., 5, 1015-1016.
- TRAUB, W.H. (1985). Incomplete cross-resistance of nalidixic acid and pipemidic acid-resistant variants of *Serratia marcescens* against ciprofloxacin, enoxacin and norfloxacin. *Chemotherapy*, 31, 34-39.
- TSCHANZ, C., HIGNITE, C.E., HUFFMAN, D.H. & AZARNOFF, D.L. (1977). Metabolic disposition of antipyrine in patients with lung cancer. *Cancer Res.*, 37, 3881-3887.
- TURGEON, P.L., GAUDREAU, C.L. & AMNTHA, R. (1987). Comparative in vitro activity of four quinolones and four other agents against enteropathogens. *Curr. Ther. Res.*, 41, 584-588.
- ULLMANN, U., GIEBEL, W., DALHOFF, A. & KOEPPE, P. (1984). Single and multiple dose pharmacokinetics of ciprofloxacin. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5, 193-196.

- VALAINIS, G., RHOMAS, D. & PANKEY, G. (1986). Penetration of ciprofloxacin into cerebrospinal fluid. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5, 207-209.
- VALLEE, F., BEBEL, M. & BERGERON, M.G. (1986). Determination of ciprofloxacin in biological samples by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Ther. Drug Monitoring*, 8, 340-345.
- VANCUTSEM, P.M., BABISH, J.G. & SCHWARK, W.S.. (1990). The fluoroquinolone antimicrobials: Structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *Cornell Vet.* 80, 173-186.
- VAN DER AUWERA, P. & SCORNEAUX, B. (1985). In vitro susceptibility of **Campylobacter jejuni** to 27 antimicrobial agents and various combinations of β -lactams with clavulanic acid and sulbactam. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 28, 37-40.
- VAN DER BOXTTEL, C.J., WILSON, J.T., LINDGREN, S. & SJÖQVIST, F. (1976). Comparison of the half-life of antipyrine in plasma, whole blood and saliva of man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 9, 327-332.
- VAN DYKE, R.A., KOOISTRA, K.L., MOSES, C.J. & POWIS, G. (1987). Effect of inhalation anesthetics on antipyrine pharmacokinetics of mice. *Biochem Pharmacol.*, 30 (7), 1023-1027.
- VANHOOF, R., HUBRECHTS, J.M., RUEBBEN, E., NYSSSEN, H.J., NULENS, E., LEGER, J. & De SCHEPPER, N. (1986). The comparative activity of pefloxacin, enoxacin, ciprofloxacin and 13 other antimicrobial agents against enteropathogenic microorganisms. *Infection*, 14, 294-298.
- VENEZIO, F.R. TATAROWICZ, W., DI VINCENZO, C.A. & O'KEEFE, J.P. (1986). Activity of ciprofloxacin against multiply resistant strains of **Pseudomonas aeruginosa**, **Staphylococcus epidermidis** and group JK corynebacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 30, 940-941.
- VERBIST, L. (1986), Comparative in vitro activity of the new quinolone CI-934. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5, 343-345.
- VESELL, E.S. (1972). Introduction : genetic and environmental factors affecting drug response in man. *Fed. Proc. Fed. Am. soc. Exp. Biol.*, 31, 1253-1269.

- VESELL, E.S. (1979). The antipyrine test in clinical pharmacology : conceptions and misconceptions. Clin. Pharmacol. Ther., 26, 275-286.
- VESSEL, E.S. & PAGE, J.G. (1969). Genetic control of the phenobarbital-induced shortening of plasma antipyrine half-lives in man. J. Clin. Invest., 48, 2202-2209.
- WAGNER, J.G. (1975). Fundamentals of clinical pharmacokinetics. 1st Ed. Drug Intelligence Publications, Hamilton. Illinois, p.295.
- WAGNER, J.G. (1976). Linear pharmacokinetic equations allowing direct calculation of many needed pharmacokinetic parameters from the coefficients and exponents of polyexponential equations which have been fitted to the data. J. Pharmacokinet. Biopharm., 4, 443-467.
- WALKER, R.D., STEIN, G.E., BUDSBERG, S.C., ROSSER, E.J. & MACDONALD, K.H. (1989). Serum and tissue fluid norfloxacin concentrations after oral administration of the drug to healthy dogs. Am. J. Vet. Res., 50, 154-157.
- WALKER, R.D., STEIN, G.E., HAUPTMAN, J.G., MACDONALD, K.H., BUDSBERG, S.C. & ROSSER, E.J. (1990). Serum and tissue cage fluid concentrations of ciprofloxacin after oral administration of drug to healthy dogs. Am. J. Vet. Res., 51, 896-900.
- WALSH, T.J., WHARTON, R.C., SPRECHER, S., MOODY, M.R. & SCHIMPF, S.C. (1983). Augmentation of in vitro antifungal activity by norfloxacin. 23rd Interscience Congress on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 971.
- WALTZ, F.G., VLASUK, G.P., ORMIECINSKI, C.J., BRESNICK, E., THOMAS, P.E., RYAN, D.E. & LEVIN, W. (1982). Multiple immunoidentical forms of phenobarbital-induced rat liver cytochromes P450 are encoded by different mRNA's. J. Biol. Chem., 257, 4023-4026.
- WEBER, A.H., SCRIBNER, R.K. & HARKS, M.I. (1985). In vitro activity of ciprofloxacin against pediatric pathogens. Chemotherapy (Basel), 31, 456-465.
- WEINSTEIN, R.A., NATHAN, G., DELZELL, D. & KABINS, S.A. (1987). In vitro susceptibility of nosocomial **Pseudomonas aeruginosa**, **Enterobacteriaceae** and **Staphylococci** to ciprofloxacin and ten other broad-spectrum antibiotics. Chemioterapia, 6, 315-318.

- WEISSER, J. & WIEDEMANN, B. (1987). Brief report: effect of ciprofloxacin on plasmids. *Am. J. Med.*, 82, 21-22.
- WEISSER, J. & WIEDEMANN, B. (1987b). Inhibition of R-plasmids transfer in *Escherichia coli* by 4-quinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 531-534.
- WELCH, R.M., ANGELIS, R.L., WINGFIELD, M. & FARMER, T.W. (1975). Elimination of antipyrine from saliva as a measure of metabolism in man. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 18, 249-257.
- WHITFIELD, J.B., MOSS, D.W., NEALNE, G., ORME, M. & BRECKENRIDGE, A. (1973). Changes in plasma gamma-glutamyl transpeptidase activity associated with alterations in drug metabolism in man. *Br. Med. J.*, 1, 316-318.
- WIJNANDS, W.J.A. & VREE, T.B. (1988). Interaction between the fluoroquinolones and the bronchodilator theophylline. *J. Antimicrob. Chemother.*, 22, Suppl., C, 109-114.
- WIJNANDS, W.J.A., VREE, T.B., BAARS, A.M. & VAN HERWAARDEN, C.L.A. (1987). Steady-state kinetics of the quinolone derivatives ofloxacin, enoxacin, ciprofloxacin and pefloxacin during maintenance treatment with theophylline. *Drugs*, 34, Suppl., 1, 159-169.
- WIJNANDS, W.J.A., VREE, T.B. & VAN HERWAARDEN, C.L.A. (1986). The influence of quinolone derivatives on theophylline clearance. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 22, 677-683.
- WINGENDER, W., BEERMAN, D., FOERSTER, D., GRAEFE, K.H., SCHACHT, P. (1984a) Mechanism of renal excretion of ciprofloxacin (Bay o 9867) a new quinolone carboxylic acid derivative in human. 4th Mediterranean Congress of Chemotherapy, Rhodes, 621.
- WINGENDER, W., GRAEFE, K.H., GAU, W., FÖRSTER, D., BEERMAN, D. & SCHACHT, P. (1984b). Pharmacokinetics of ciprofloxacin after oral and intravenous administration in healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 3, 355-359.
- WISE, R. (1984). Norfloxacin: a review of pharmacology and tissue penetration. *J. Antimicrob. Chemother.*, 13, Suppl., B, 59-64.

- WISE, R., ANDEWS, J.M, & EDWARDS, L.J.(1983). In vitro activity of Bay o 9867, a new quinolone derivative, compared with those of other antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 23, 559-564.
- WISE, R. & DONOVAN, I..A. (1987). Tissue penetration and metabolism of ciprofloxacin. *Am. J. Med.*, 82, Suppl., 4A, 103-107.
- WISE, R., LOCKLEY, R.M., WEBBERLY, M. & DENT, J. (1984). Pharmacokinetics of intravenously administered ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 26, 208-210.
- WISE, R., LOCKLEY, R., WEBBERLY, M. & ADHAMI, Z.N. (1984b). Pharmacokinetics and tissue penetration of enoxacin and norfloxacin. *J. Antimicrob. Chemother.*, 14, Suppl., C, 75-81.
- WITTMANN, D.H., TEICHMANN, W., HUEBNER, A., FOCK, R. & RAUERNFEIND, A. (1985). Penetration of ciprofloxacin into inorganic and organic bone compartments. International Congress of Chemotherapy, Kyoto, Japan. S40-S47.
- WOLFF, M., BOUTRON, L., SINGLAS, E., CLAIR, B., DECAZES, J.M. & REGNIER, B. (1987). Penetration of ciprofloxacin into cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 899-902.
- WOLFSON, J.S., HOOPER, D.C., SWARTZ, M.N. & HUGH, G.L. (1982). Antagonism of the B subunit of DNA gyrase eliminates plasmids pBR 322 and pMG 110 from **Escherichia coli**. *J. Bacteriol.*, 152, 338-344.
- WOLFSON, J.S., HOPER, D., NG, E.Y., SOUZA, K.S., McNUGH, G.L. & SWARTZ, M.N. (1987). Antagonism of wild-type and resistant **Escherichia coli** and its DNA gyrase by the tricyclic 4-quinolone analogs ofloxacin and S-25930 stereoisomers. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31(11), 1861-1863.
- YAMAGISHI, J.I., FURUTANI, Y., INOUE, S., OHUE, T., NAKAMURA, S. & SHIMIZU, M. (1981). New nalidixic acid resistance mutations related to deoxyribonucleic acid gyrase activity. *J. Bacteriol.*, 148, 450-458.

- YAMAGISHI, J., YOSHIDA, H., YAMAYESHI, M. & NAKAMURA, S. (1986). Nalidixic acid-resistant mutations of the *gyr B* gene of *Escherichia coli*. *Mol. Gen. Genet.*, 204, 367-373.
- YAMAMOTO, Y., IHARA, T. & SHIMUKA, H. (1981). Laboratory and clinical investigations of AM-715 in surgical field. *Chemotherapy (Tokyo)*, 29, Suppl., 4, 663-668.
- YAMAOKA, K., NAKAGAWA, T. & UNO, T. (1978). Application of Akaike's Information Criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, 6, 165-175.
- YOSHIMURA, H., SHIMENO, H. & TSUKAMOTO, H. (1968). Metabolism of drugs. LIX. A new metabolite of antipyrine. *Biochem. Pharmacol.*, 17, 1511-1516.
- YOSHIMURA, H., SHIMENO, H. & TSUKAMOTO, H. (1971). Metabolism of drugs. LXX. Further study on antipyrine metabolism. *Chem. Pharm. Bull., Tokyo*, 19, 41-51.
- ZEILER, H.J., PETERSEN, U., GAU, W. & PLOSCHKE, H.J. (1987). Antibacterial activity of the metabolites of ciprofloxacin and its significance in the bioassay. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 37, 131-134.
- ZELICKSON, A.S. (1964). Phototoxic reaction with nalidixic acid. *J. Am. Med. Ass.*, 190, 556.
- ZWEERINK, M.M. & EDISON, A. (1986). Inhibition of *Micrococcus luteus* DNA gyrase by norfloxacin and 10 other quinolone carboxylic acids. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29(4), 598-601.