

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA**

Departamento de Toxicología y Farmacología



**COMPORTAMIENTO FARMACOCINÉTICO DE LA
MARBOFLOXACINA Y DE LA ENROFLOXACINA EN
LLAMAS ("LAMA GLAMA")**

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

Sonia Rubio Langre

Bajo la dirección de los doctores
José J. de Lucas Burneo
Manuel I. de San Andrés Larrea

Madrid, 2011

ISBN: 978-84-694-8604-7

© Sonia Rubio Langre, 2011



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA

**COMPORTAMIENTO FARMACOCINÉTICO
DE LA MARBOFLOXACINA Y DE LA ENROFLOXACINA
EN LLAMAS (*Lama glama*)**

Sonia Rubio Langre

Madrid, 2010

D. José Julio de Lucas Burneo, Prof. Contratado Doctor y D. Manuel Ignacio de San Andrés Larrea, Profesor Titular de Farmacología, adscritos al Departamento de Toxicología y Farmacología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICAN

Que la memoria presentada por la Licenciada en Veterinaria Dña. Sonia Rubio Langre, con el título “Comportamiento Farmacocinético de la Marbofloxacina y de la Enrofloxacina en Llamas (*Lama glama*)”, ha sido realizada bajo nuestra dirección en el laboratorio del Dpto. de Toxicología y Farmacología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid y en los campos de prácticas de la Facultad de Agronomía y Ciencias Veterinarias de la Universidad Católica de Córdoba (Argentina).

Madrid, noviembre de 2010

Fdo. José J. de Lucas Burneo

Fdo. Manuel I. de San Andrés Larrea

Trabajo que presenta Dña. Sonia Rubio Langre
para aspirar al título de Doctor

Fdo. Sonia Rubio Langre

Madrid, noviembre 2010

AGRADECIMIENTOS

Es curioso que lo último que escribo en relación a este trabajo de los últimos años, aparezca ahora en primer lugar. Y si complejo me resultó plasmar en el papel los conocimientos adquiridos, más difícil me ha parecido algo tan “aparentemente” sencillo como expresar mi gratitud.

En primer lugar, quiero manifestar mi sincero agradecimiento a mis directores de Tesis, los profesores D. Julio de Lucas Burneo y D. Manuel San Andrés Larrea. Ellos son los verdaderos artífices de este trabajo. Confiaron en mi, me orientaron y formaron para adentrarme en el camino de la Farmacología y de la investigación y sobre todo, me demostraron que la constancia, tiene siempre un buen final; que lo que se comienza con ilusión, a pesar de los obstáculos que pueden surgir, puede terminar con tanta o más alegría que cuando empezó.

Gracias también a los profesores de la Cátedra de Farmacología, Mariló, Mariví, Casilda, Mara (dejaste huella), Luis, Fernando... Siempre han estado dispuestos a brindarme su ayuda y cooperación. A Mariano, del que aprendí tantas cosas.

Mi agradecimiento al Departamento de Toxicología y Farmacología de la Facultad de Veterinaria de Madrid, por poner a mi alcance todos los medios necesarios para realizar este trabajo.

A los Laboratorios Bayer y Vetoquinol por su desinteresada aportación y a la AECID por la financiación de los proyectos.

A Mar Sanz Luengo y todo el personal de la biblioteca de la Facultad de Veterinaria de la UCM; ¡que paciencia han tenido conmigo! A Nacho, que siempre cuidó de que mi ordenador estuviera en perfectas condiciones. A Gustavo Sánchez Visconti de LAV por su ayuda laboratorial.

A los profesores de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Católica de Córdoba, en Argentina. Gracias, Juan Carlos y Litter. Siempre conté con vuestra generosidad y apoyo. A todos los compañeros del otro lado del charco: Soledad, Jordana, Martín, Matías, Pilar, Diego, Matías, Luis (y aquellos de los que me olvido). ¡Si la gente supiera lo divertido que es trabajar con vosotros...! Gracias a vosotros por hacerme sentir como en casa.

Pero un trabajo de investigación es también fruto del reconocimiento y del apoyo vital que nos ofrecen las personas que “sólo nos quieren”. Sin ellas no tendríamos la fuerza y la energía que nos animan a crecer como personas y como profesionales; por ello también quiero agradecer a todos mis amigos el que hayan estado pendientes de mí para que no me desanimara y siguiera adelante.

Quiero también dar las gracias a mi familia; a mis padres, Graziella, Antonio y Federico, que aunque ya no están con nosotros, están en mi corazón, y a M^a Elisa. A los primeros por darme la vida, vida que junto a ellos estuvo llena de felicidad,

y a todos por darme su amor y su ayuda siempre que la necesité y por enseñarme a dar los primeros pasos en todos los caminos que he recorrido. A mis hermanos: Graziella, Antonio, M^a Paz, Aniria, Emilio, Melania, Fernando, Federico, Lola y Mariló. ¡No me salen las palabras! Simplemente me lo han dado todo.

Y como decía al inicio, también el final de este agradecimiento es lo más difícil, porque lo que aquí pongo es poco o nada comparado con lo que siento.

Gracias a mis hijos, Manuel, Ignacio y Javier. Por su edad, les costó comprender por qué me metía en esto, pero aún así, han sido mis primeros admiradores y han aceptado con alegría y con cariño mis ausencias, ayudándome, más de lo que se pueden imaginar, en todo lo que estaba en sus manos.

A mi marido, Manolo; es imposible decir con palabras todo lo que le tengo que agradecer. Siempre animándome, solucionando cualquier problema, haciendo que todo pareciera fácil, demostrando en todo momento una gran dosis de paciencia y mucho amor. Aunque parezca cursi, has sido, y eres, mi sombra y mi luz.

Gracias a todos los que de alguna forma han participado en este proyecto, ya que si bien ha requerido de esfuerzo y dedicación por nuestra parte, no hubiese sido posible su finalización sin la cooperación de todas y cada una de las personas que han colaborado.

A Manolo, por quererme tanto.

A Manuel, Ignacio y Javier, por ser como son.

A ella.

ÍNDICE	
I.- Revisión bibliográfica	1
I.1.- Los camélidos sudamericanos: introducción	3
I.2.- Evolución histórica de la antibioterapia	7
I.3.- Quinolonas	8
I.3.1.- Clasificación	8
I.3.2.- Estructura química y relación estructura-actividad	10
I.3.2.1.- Estructura química de la marbofloxacin	14
I.3.2.2.- Estructura química de la enrofloxacin	15
I.3.3.- Propiedades fisicoquímicas	15
I.3.4.- Mecanismo de acción	18
I.3.5.- Farmacocinética	20
I.3.5.1.- Farmacocinética de las fluoroquinolonas en especies no rumiantes	21
I.3.5.1.1.- Biodisponibilidad	21
I.3.5.1.2.- Distribución	23
I.3.5.1.3.- Eliminación: metabolismo y excreción	27
I.3.5.2.- Farmacocinética de las fluoroquinolonas en especies rumiantes	30
I.3.5.2.1.- Biodisponibilidad	30
I.3.5.2.2.- Distribución	31
I.3.5.2.3.- Eliminación: metabolismo y excreción	32
I.3.5.3.- Farmacocinética de la marbofloxacin	33
I.3.5.3.1.- Biodisponibilidad	33
I.3.5.3.2.- Distribución	37
I.3.5.3.3.- Eliminación: metabolismo y excreción	39
I.3.5.4.- Farmacocinética de la enrofloxacin	41
I.3.5.4.1.- Biodisponibilidad	42
I.3.5.4.2.- Distribución	46
I.3.5.4.3.- Eliminación: metabolismo y excreción	48
I.3.5.5.- Factores que pueden alterar el comportamiento farmacocinético	51
I.3.6.- Actividad antimicrobiana	54
I.3.6.1.- Actividad <i>in vitro</i>	54
I.3.6.2.- Actividad <i>in vitro</i> de la marbofloxacin y de la enrofloxacin	55
I.3.7.- Efecto postantibiótico	57
I.3.8.- Resistencias bacterianas	58
I.3.9.- Interacciones	62
I.3.9.1.- Interacciones farmacocinéticas	62
I.3.9.2.- Interacciones farmacodinámicas	63
I.3.10.- Toxicidad	64
I.3.10.1.- Relación estructura-efectos adversos	64
I.3.10.2.- Efectos adversos	65
I.3.10.3.- Efectos adversos de la marbofloxacin	66
I.3.10.4.- Efectos adversos de la enrofloxacin	67
I.3.10.5.- Evaluación medioambiental	68

I.3.11.- Indicaciones clínicas	68
I.3.11.1.- Usos clínicos de la marbofloxacin	70
I.3.11.2.- Usos clínicos de la enrofloxacin	71
II.- Justificación y objetivos	73
III.- Material y métodos	79
III.1.- Material	81
III.1.1.- Animales	81
III.1.2.- Fármacos utilizados	81
III.1.3.- Material utilizado durante la toma de muestras y su almacenamiento	82
III.1.4.- Material utilizado durante la extracción y cuantificación de las muestras: reactivos	82
III.1.5.- Instrumentación para la extracción y cuantificación	83
III.1.6.- Equipo de cromatografía líquida de alta eficacia	83
III.1.7.- Material diverso	83
III.1.8.- Instrumentación para el análisis de los datos	83
III.2.- Métodos	84
III.2.1.- Acondicionamiento y mantenimiento de los animales	84
III.2.2.- Administración del fármaco y toma de muestras	85
III.2.2.1.- Estudio 1: marbofloxacin	86
III.2.2.2.- Estudio 2: enrofloxacin	87
III.2.3.- Registro de las muestras	90
III.2.4.- Acondicionamiento de las muestras	90
III.2.5.- Técnica y metodología extractiva	90
III.2.6.- Metodología analítica	91
III.2.6.1.- Detección de fármacos	91
III.2.6.2.- Preparación de la fase móvil	91
III.2.6.3.- Condiciones cromatográficas	92
III.2.6.4.- Validación del método analítico	92
III.2.6.5.- Linealidad	93
III.2.6.6.- Precisión y exactitud	93
III.2.6.7.- Límite de detección	94
III.2.6.8.- Límite de cuantificación o sensibilidad	94
III.2.6.9.- Reproducibilidad del método analítico	94
III.2.6.10.- Recuperación	94
III.2.7.- Tratamiento cinético	95
III.2.8.- Tratamiento estadístico	96
III.2.9.- Cálculo de índices de eficacia	97
IV.- Resultados	99
IV.1.- Examen clínico y analítica sanguínea de los animales	101
IV.2.- Metodología analítica	104
IV.2.1.- Metodología analítica de la marbofloxacin	104
IV.2.1.1.- Condiciones cromatográficas: longitud de onda	104
IV.2.1.2.- Linealidad	105
IV.2.1.3.- Reproducibilidad del método analítico	106
IV.2.1.4.- Recuperación	106

IV.2.1.5.- Rectas de calibración	106
IV.2.1.6.- Límite de cuantificación o sensibilidad.....	108
IV.2.2.- Metodología analítica de la enrofloxacin	108
IV.2.2.1.- Condiciones cromatográficas: longitud de onda	108
IV.2.2.2.- Linealidad	109
IV.2.2.3.- Reproducibilidad del método analítico	110
IV.2.2.4.- Recuperación	111
IV.2.2.5.- Rectas de calibración	111
IV.2.2.6.- Límite de cuantificación o sensibilidad.....	115
IV.3.- Estudio farmacocinético	115
IV.3.1.- Estudio farmacocinético de la marbofloxacin	113
IV.3.1.1.- Prueba nº 1: administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacin	115
IV.3.1.2.- Prueba nº 2: administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacin	118
IV.3.1.3.- Prueba nº 3: administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacin	119
IV.3.1.4.- Prueba nº 4: administración subcutánea de dosis múltiple de 5 mg/kg de marbofloxacin	120
IV.3.2.- Estudio farmacocinético de la enrofloxacin	124
IV.3.2.1.- Prueba nº 1: administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin	124
IV.3.2.2.- Prueba nº 2: administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin	127
IV.3.2.3.- Prueba nº 3: administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin	129
IV.3.2.4.- Prueba nº 4: administración subcutánea de dosis múltiple de 5 mg/kg de enrofloxacin	131
IV.3.2.5.- Prueba nº 5: administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin LA	136
IV.3.2.6.- Prueba nº 6: administración subcutánea de dosis múltiple de 15 mg/kg de enrofloxacin LA	138
IV.3.3.- Resultados estadísticos	143
IV.3.3.1.- Marbofloxacin	143
IV.3.3.2.- Enrofloxacin	145
IV.3.4.- Resultados PK/PD	148
IV.3.4.1.1.- Marbofloxacin	148
IV.3.4.1.2.- Enrofloxacin	149
V.- Discusión	153
V.1.- Discusión del material	155
V.1.1.- Material biológico	155
V.1.2.- Fármacos y productos biológicos utilizados, reactivos e instrumentación	156
V.2.- Discusión del método	156
V.2.1.- Protocolo de administración	156
V.2.2.- Metodología analítica	158
V.2.3.- Tratamiento farmacocinético	161

V.2.3.1.- Absorción	161
V.2.3.2.- Distribución	170
V.2.3.3.- Eliminación	173
V.2.4.- Tratamiento estadístico	180
V.2.5.- Índices de eficacia	182
VI.- Conclusiones	189
VII.- Resumen	193
VII.1.- Resumen en español	195
VII.2.- Summary	197
VIII.- Bibliografía	199

I. Revisión bibliográfica

I.1.- Los Camélidos Sudamericanos: introducción

Los camélidos aparecieron en América del Norte hace 45 millones de años. Entre los restos fósiles encontrados en Norteamérica, el camélido más antiguo conocido apenas si tenía 30 cm de alzada. Algunas especies migraron durante la transición del Plioceno al Pleistoceno hace tres millones de años.



Fig. 1.- Origen de los camélidos y su emigración (Pinto y col., 2010).

Los camélidos se clasifican en el Reino *Animalia*, Filo *Chordota*, Clase *Mammalia*, Orden *Artiodactyla*, Suborden *Tylopoda* y Familia *Camelidae*. Antiguamente se les conoció con el nombre de “Auquénidos”, término utilizado por Illiger en 1881, y que fue modificado, ya que en 1789, Thumberg, lo había utilizado para describir un género de escarabajos (Wheeler, J.C., 2006). La Familia *Camelidae* está formada por dos tribus: los *Camelini* y los *Lamini*. (Pinto y col., 2010).

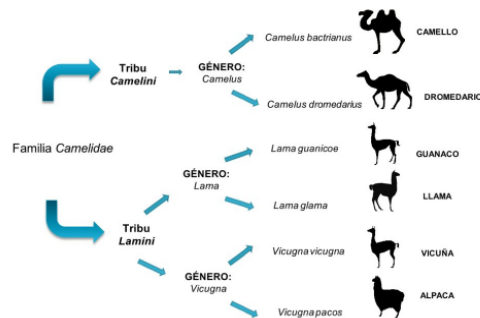


Fig. 2.- Clasificación de los camélidos (Pinto y col., 2010).

La Tribu *Camelini* habita en zonas desérticas de Asia y África y es conocida como “Camélidos del Viejo Mundo”. La Tribu *Lamini* habita en América del Sur y

se conoce como “Camélidos Sudamericanos” (CSA) y se diferencian de los anteriores en que carecen de joroba y tienen menor tamaño.

Los Camélidos llegados a Sudamérica se dispersaron y se diversificaron. Bajo este término se incluyen dos especies domésticas, la alpaca (*Lama pacos*) y la llama (*Lama glama*) y a dos silvestres, la vicuña (*Lama vicugna*) y el guanaco (*Lama guanicoe*). Hubo una tendencia dominante, aunque no única, hacia el aumento de tamaño, incremento de la capacidad craneana, pérdida de los dientes incisivos superiores y cambios en la morfología ósea necesaria para soportar una gran musculatura en el labio, logrando una eficiente y adaptable masticación. Esto les permitió alternar entre una alimentación ramoneadora (de árboles y arbustos) y el forrajeo.

Las llamas son los camélidos sudamericanos más grandes. Pueden llegar a superar los 150 kilogramos de peso y tienen una altura a la cruz de 1,20 metros. Existen dos razas, *Chaku* y *K'ara*, conocidas también con las denominaciones Lanuda y Pelada, respectivamente (Fernández-Baca, S., 2005). No constituyen un grupo natural; se considera que han sido "creadas" por los antiguos pobladores andinos, a partir del proceso de domesticación de los guanacos hace unos 6 ó 7 mil años. Sin embargo, el auge de su crianza y aprovechamiento se alcanzó durante el imperio incaico del Tawantinsuyo.

Los Camélidos Sudamericanos (CSA) constituyen una riqueza pecuaria y genética de las poblaciones andinas. Suponen una fuente de fibra, carne, trabajo y muchos productos que son indispensables para la subsistencia de un amplio sector de la población alto andina (Vargas-Terán, M., 2005). Se estima que existen casi siete millones de CSA en los países andinos asentados en Argentina, Bolivia, Colombia, Chile, Ecuador, Paraguay y Perú (Fernández-Baca, S., 2005). El 51 % se encuentra en Perú, único país que alberga las cuatro especies y el 34% en Bolivia donde se encuentra la mayor población de llamas; aunque también existen muchos rebaños de llamas en Europa (Reino Unido, Alemania, Italia y Francia), Japón, Estados Unidos de Norteamérica, Canadá, Australia y Nueva Zelanda (Pinto y col., 2010).

Los CSA constituyen el único medio de utilización productiva de las extensas áreas de pastos naturales de las zonas alto andinas donde no es posible la agricultura ni la crianza económica de otras especies de animales domésticos (Pinto y col., 2010). La crianza de llamas es una actividad económica relevante para estas regiones andinas, destacando la producción de fibra. El color y largo de su pelaje es variable, según la raza a la que pertenecen, y el diámetro de la fibra oscila entre 20 y 80 micrómetros, dependiendo de si son productoras de fibra o de carga.

También son apreciadas por su carne, a pesar de que la carne de llama supone un consumo muy bajo en los medios urbanos. Posee unas extraordinarias cualidades nutritivas, características muy adecuadas para los perfiles nutricionales de las sociedades modernas. Lo primero que sorprende en estas carnes, es la baja cantidad de grasa (siempre blanca), la textura (grano muy fino) y el color

(sumamente agradable para el consumidor). Estudios realizados en el INTA EERA-Castelar por técnicos del laboratorio de carnes, confirman además el bajísimo contenido de colesterol, inferior al 0,16 % (Fernández-Baca, S., 2005). El aprovechamiento de la carne ya existe en el NO de Argentina, en el norte de Chile (donde hay carnicerías especializadas) y en Bolivia y Perú (donde existen industrias que procesan la carne fresca). La carne de llama se consume ya sea fresca o deshidratada (charqui o chalona) y en conserva.

Igualmente es reconocida la obtención de subproductos como las pieles y cueros que tienen múltiples usos industriales y artesanales. El estiércol es otro subproducto valioso que se usa como combustible para la cocción de los alimentos y como fertilizante para los cultivos.

Los camélidos están siendo considerados como ganado menor, facilitando su cría en cautiverio, la comercialización y el traslado de los mismos en todo el territorio. Las zonas marginales son un excelente campo para el desarrollo de esta ganadería emergente por su rusticidad, bajos requerimientos y adaptación a suelos pobres y grandes amplitudes térmicas.

Presentan particularidades anatómicas y fisiológicas relacionadas con su adaptación a las condiciones de escasez de oxígeno y forraje de las grandes alturas; las arterias pulmonares con una pared muy delgada con una única lámina elástica, la particular forma elíptica y pequeño tamaño de sus glóbulos rojos, su mecanismo de regulación térmica y su mayor eficiencia digestiva de la fibra, les permite adaptarse a la escasez de recursos forrajeros. Al igual que el resto de los camélidos, presentan una alta eficiencia de los mecanismos economizadores de agua (Fernández-Baca, S., 2005).

Según describen Alzola y col., en 2004, el estomago de estos animales igual que el de la alpaca, el guanaco y la vicuña, está constituido por tres compartimentos: el proximal o rumen que es el más voluminoso (83 % del total del volumen gástrico), el intermedio o retículo, el más pequeño (6 %) y el distal llamado omaso de abomaso (11 %); histológicamente, presenta dos regiones: glandular, que aumenta la superficie del epitelio y que se asemeja a la estructura fúndica de los mamíferos monocavitarios y aglandular, que presenta un epitelio plano estratificado diferente al de los bóvidos y otros rumiantes. A diferencia de los rumiantes verdaderos cuyo epiplon está formado por dos hojas (superficial y profunda), estos animales tienen un epiplon compuesto de una única y delgada hoja, y el surco gástrico está compuesto por un sólo labio. El proceso de regurgitación está asociado con el saco craneal del compartimento proximal en lugar de con el retículo, como en los rumiantes verdaderos. Otra de las diferencias que presenta con los rumiantes verdaderos es la aparición de abundante tejido linfoide en la parte glandular del compartimento intermedio, presente por ejemplo en el estomago del cerdo.

La estructura de las vísceras y glándulas anexas del aparato digestivo de los camélidos sudamericanos muestran diferencias morfológicas con relación a otros rumiantes y herbívoros.

La llama carece de vesícula biliar (Castro y col., 2001) al igual que los équidos, y el conducto hepatopancreático, en apariencia no funcional, secreta la bilis hacia el intestino durante todas las fases del ciclo digestivo. Presenta una única desembocadura de los conductos hepático y pancreático mayor y menor, lo que les asemeja funcionalmente con ovinos y caprinos diferenciándolos de los équidos, en los que está separada. En camélidos, ovinos y caprinos, el conducto pancreático mayor se une al conducto colédoco formando la ampolla hepatopancreática (Ghezzi y col., 2000) la cual está ausente en el bovino, cerdo y conejo.

Debido a que la producción y aprovechamiento de los camélidos constituyen grandes posibilidades para el desarrollo socioeconómico del sector, la FAO, a solicitud de los países andinos, aprobó el proyecto de cooperación técnica “Apoyo a la crianza y aprovechamiento de los camélidos sudamericanos en la Región Andina” (TCP/RLA/2914).

Las prácticas de manejo de alpacas y llamas en la mayoría de casos, son de tipo tradicional, carentes de innovaciones tecnológicas. Uno de los mayores problemas a los que se enfrentan los productores son la alta mortalidad de crías y la deficiente calidad de la carne debido a la presencia de sarcocistis. Además, hemos de añadir la baja tasa de natalidad debido a la mortalidad embrionaria y el deficiente manejo reproductivo, el empobrecimiento de las praderas de pastos naturales debido al sobrepastoreo y la baja calidad de la fibra debido a la falta de programas de selección. Todo ello provoca una baja producción y pobre rentabilidad para el productor. La Universidad Católica de Córdoba en colaboración con otros organismos, como el Centro de Investigaciones Textiles del Instituto Nacional de Tecnología Industrial (CIT-INTA) y centros extranjeros, como la Universidad de Barcelona, ha desarrollado experiencias en la industria local y pruebas en organismos especializados con buenos resultados.

Las enfermedades infecciosas son la causa principal de la alta mortalidad y morbilidad de las crías (Fernández-Baca, S., 2005). Su presentación está asociada a fallos en la transferencia de inmunidad de la madre a las crías a través del calostro (Martín Espada y col., 2010). La enterotoxemia, las diarreas neonatales, los procesos respiratorios agudos y la septicemia son las más frecuentes (Fernández-Baca, S., 2005; Pinto y col., 2010; Martín Espada y col., 2010).

La mortalidad por enterotoxemia causada por *Clostridium perfringens* tipo A, puede alcanzar niveles mayores del 50 % en las crías dentro del primer mes de vida. También son frecuentes (15 %) las colibacilosis que producen diarrea y septicemia causadas por cepas de *Escherichia coli* que afectan a las crías. La diarrea neonatal está provocadas por rotavirus, coronavirus, *E. coli*,

Cyptosporidium spp., *Giardia spp.* y *Coccidia* (Martín Espada y col., 2010; Mercado y col., 2004; Whitehead, C.E., 2009).

La neumonía, con una mortalidad de entre 2 y 27 % está provocada por el género *Pasteurella*. En adultos además son frecuentes las infecciones provocadas por *Streptococcus zooepidemicus*, *Actinomices*, *Fusobacterium*, y *Clostridium septicum*.

La reducción de las elevadas tasas de mortalidad neonatal mediante la prevención y control de las enfermedades infecciosas es clave para la mejora de la producción y conservación de estos animales.

Para lograr un mayor beneficio de la crianza de llamas y contribuir al bienestar de los pequeños productores, en su mayoría de muy escasos recursos, hay que prestar la debida atención entre otros aspectos, a la reducción de la mortalidad de crías y adultos. Esto implica el desarrollo mediante la investigación, de métodos efectivos e integrales de control y prevención de enfermedades.

A pesar de que la llama es un herbívoro (tilópodo) con un aparato digestivo muy parecido a los rumiantes, no debemos seguir las mismas pautas terapéuticas que se emplean en ganado vacuno, lanar o caprino. Teniendo en cuenta las diferencias registradas en el comportamiento cinético de numerosos fármacos, en las distintas especies, se hace necesario, para planificar e instaurar un tratamiento eficaz, conocer las características farmacocinéticas que presenta el fármaco a utilizar en la especie a tratar.

I.2.- Evolución histórica de la antibioterapia

En 1887, Pasteur observó como el bacilo del carbunco se inhibía en presencia de contaminantes del aire; posteriormente estudió como *Pseudomona aeruginosa* antagonizaba al mismo *Bacillus anthracis* y de aquella bacteria se elaboró la piocinasa, que tenía efecto lítico sobre algunas bacterias. Podemos decir que fue el comienzo de la quimioterapia. En 1908, Gelmo descubrió el prontosil sustancia empleada para teñir la lana y que 25 años después demostró su eficacia frente a infecciones bacterianas (sulfonamida).

Posteriormente, en 1929, Fleming aisló y cultivó un hongo, el *Penicilium*, al comprobar que tenía propiedades antibacterianas: de su estudio surgió la penicilina que, gracias a los estudios de Florey y Chain en 1939, permitió disponer de este fármaco en forma clínica. A partir de aquí el avance continúa de manera vertiginosa. En 1935, en Alemania, Gerhard Domagk descubrió que el prontosil era eficaz en la protección frente a *Streptococcus haemolyticus* en ratones, demostrando que la fracción antibacteriana del mismo era la sulfonamida (sulfanilamida). En 1942 Waksman y col., obtuvieron la estreptomycin, primer aminoglucósido introducido para la terapia antimicrobiana frente a

microorganismos gram-negativos, y en 1953 aparecieron la oxitetraciclina y la cloromicetina, primer antibiótico sintetizado (cloranfenicol) y que resultaba eficaz frente a bacterias gram-negativas, gram-positivas y rickettsias, considerándose entonces como antibiótico de amplio espectro; y por último a partir del núcleo de la tetraciclina se obtuvieron el tiamfenicol y el florfenicol, antibióticos de gran potencia.

En 1960 Leshner, trabajando con la cloroquina desarrolló un grupo de fármacos sintéticos: las quinolonas.

La primera quinolona desarrollada en 1962 fue el ácido nalidíxico (Mitscher y col., 1989) aprobada en 1965 para la terapéutica de infecciones urinarias provocadas por microorganismos gram-negativos y forunculosis en peces de granja (Lees y Aliabadi, 2002). Sin embargo, pronto comenzaron a evidenciarse su estrecho espectro antimicrobiano, las bajas concentraciones alcanzadas en sangre y baja biodisponibilidad tras la administración oral, su escasa distribución y su gran capacidad para inducir resistencias, limitando así su uso.

Las primeras 4-quinolonas, derivadas del ácido nalidíxico y con estructuras similares, fueron el ácido pipemidínico (piridopirimidina), el ácido oxolínico, la flumequina y el cinoxacino (cinolona) que también fueron empleadas para el tratamiento de las infecciones urinarias por gram-negativos.

En los años 80, gracias a diferentes sustituciones químicas en la molécula, surgieron las fluoroquinolonas, derivadas de naftiridinas o quinolonas. Desde entonces y hasta la actualidad el número de moléculas sintetizadas llega a 10.000 (Gutiérrez-Zufiaurre, N., 2004).

La marbofloxacina fue sintetizada por primera vez en el año 1986 por Aoki y col., y la enrofloxacina fue sintetizada por Grohe y Peterson en 1980 introduciéndose en el mercado, para uso exclusivo en veterinaria, en los años 1995 y 1988 respectivamente.

I.3.- Quinolonas

I.3.1.- Clasificación

Las quinolonas se han clasificado desde diversos puntos de vista: estructural, generacional, por espectro,....

Según su estructura química se dividen, de acuerdo al núcleo básico que posean, en naftiridinas (ácido nalidíxico, enoxacina), cinolinas (cinoxacina), piridopirimidinas (ácido pipemidínico y ácido piromídico), y quinolonas (flumequina, acrosoxacina, ácido oxolínico) y fluoroquinolonas (norfloxacina, enrofloxacina, ciprofloxacina, ofloxacina, enoxacina, marbofloxacina, amifloxacina, sarafloxacina

y pefloxacina); Fitton, en 1992, las clasificó por generaciones, clasificación que se impuso a partir de los años noventa. Las quinolonas pertenecientes a cada generación presentan unas características farmacocinéticas, de potencia y espectro de actividad análogas:

- Quinolonas de primera generación: incluye a las denominadas quinolonas clásicas como el ácido nalidíxico, ácido oxolínico, ácido pipemidínico, ácido piromidínico y la cinoxacina. Generalmente se incluye también en este grupo a la flumequina, primera quinolona fluorada.

- Quinolonas de segunda generación: originadas a partir de la síntesis de la norfloxacin, primera fluoroquinolona. Incluye moléculas monofluoradas como enrofloxacin, ciprofloxacin, ofloxacin, enoxacin, marbofloxacin, amifloxacin, sarafloxacin y pefloxacin.

- Quinolonas de tercera generación: incluye moléculas multifluoradas como la lomefloxacin, fleroxacin, temafloxacin, difloxacin, tosufloxacin y danofloxacin, abarcando también compuestos que presentan una mayor potencia *in vitro* contra gram-negativos, gram-positivos, anaerobios y patógenos intracelulares como la levofloxacin, clinafloxacin, sparfloxacin, grepafloxacin, sitafloxacin y trovafloxacin.

Otra forma de clasificar las quinolonas es en función del espectro que abarquen. Así, la primera generación estaría formada por las quinolonas clásicas cuyo espectro prácticamente se reduce a enterobacterias; las de segunda generación con un espectro más amplio frente a microorganismos aerobios gram-negativos, algunos aerobios gram-positivos e incluso algunos anaerobios; y la tercera generación que estaría compuesta por quinolonas que presentan mayor potencia *in vitro* contra gram-negativos, gram-positivos, anaerobios, micoplasmas y patógenos intracelulares (Rothlin, R.P., 1999).

Bryskier y Chantot (1995) proponen dos sistemas de clasificación basados en la estructura química y en las propiedades biológicas, respectivamente. Según esta clasificación, se diferenciarían cuatro grupos de quinolonas de acuerdo a la estructura química y al núcleo básico que posean: monocíclico, bicíclico, tricíclico y tetracíclico.

De acuerdo a la actividad biológica, estos mismos autores, dividen estos compuestos en cuatro grupos en función de su espectro antibacteriano y del grado de transformación metabólica que sufran. De esta manera, un primer grupo estaría formado por las quinolonas con espectro limitado (como las quinolonas clásicas) y un segundo grupo incluiría a aquellas con espectro ampliado. En este último grupo se encontrarían las quinolonas más nuevas, que poseen, además, perfiles farmacocinéticos más favorables y concentraciones inhibitorias mínimas menores. Cada uno de estos grupos se dividiría a su vez en dos, en función del grado de metabolismo, para lo cual consideran que una molécula no es significativamente

metabolizada cuando menos del 5 % de la dosis es detectada en forma de metabolitos (Bryskier y Chantot, 1995).

Por último podríamos clasificarlas según el uso para el que han sido aprobadas: así tendríamos quinolonas de uso en medicina humana o en medicina veterinaria. Las quinolonas aprobadas para uso en medicina veterinaria en los diferentes países son el ácido oxolínico, la ciprofloxacina, la danofloxacina, la difloxacina, la enrofloxacina, la flumequina, la marbofloxacina, la norfloxacina y nicotinato de norfloxacina, la ofloxacina, la orbifloxacina y la sarafloxacina.

I.3.2.- Estructura química y relación estructura-actividad

Gutiérrez-Zufiaurre en 2004, define las quinolonas como antimicrobianos formados por un anillo heteroaromático bicíclico que combina el núcleo β -piridona, ácido carboxílico y un anillo aromático (naftidina, quinolina, cinolina o piridopirimidina). Son un grupo de moléculas muy heterogéneas que se comportan como bioisómeros.

El nombre genérico de quinolona se ha establecido y generalizado para favorecer su comparación puesto que todas tienen un mismo mecanismo de acción, pero de forma estricta sólo son quinolonas las derivadas de la 4-oxoquinolina o 4-quinolona.

Clásicamente desde un punto de vista químico todas las quinolonas sintetizadas se engloban en 4 grupos:

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

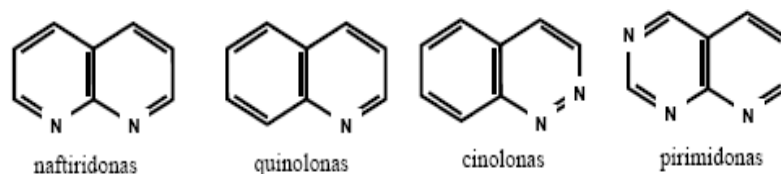


Fig. 3.- Estructuras básicas de las quinolonas.

Las derivadas de los grupos 3 y 4 no han sido desarrolladas, ya que tanto la presencia de un nitrógeno en posición 2 en las 4-cinolonas, como el nitrógeno en posición 6 en las 4-pirimidonas, impiden la fluoración, dando lugar a una notable reducción de la actividad. En los últimos años se ha desarrollado un nuevo grupo químico, las 2-piridonas en las cuales el nitrógeno de la posición 1 sustituye al carbono entre las posiciones C₄ y C₅.

El desarrollo de este grupo de antimicrobianos se ha visto favorecido por la posibilidad de modificar su estructura básica, así como la posibilidad de sustituciones en todas ellas (seis) a excepción de la posición 3 (un radical carboxilo) y la 4 (un radical oxo). Las modificaciones van a dar lugar a variaciones en la actividad de las quinolonas frente a microorganismos y a modificaciones en las propiedades farmacocinéticas, toxicidad e interacciones con otros fármacos.

Las sustituciones en las distintas posiciones se pueden clasificar en constantes, habituales y variables: las constantes son las que definen al grupo; las habituales son aquellas sustituciones (generalmente dos, X₂ y X₆: en ambos casos es un nitrógeno o un carbono unido a un átomo o un radical muy pequeño) que tienen pocas opciones de cambio; y por último están las sustituciones variables, en N₁ y R₅ (que son esenciales) y R₇ y X₈ (son importantes, aunque accesorias) donde las posibilidades de sustitución son mayores.

Aunque algunas propiedades antibacterianas se pueden asociar con algunos de los radicales, no debemos olvidar que la molécula actúa en conjunto por lo que las sustituciones pueden actuar de forma positiva o negativa entre sí en cuanto a la actividad antibacteriana, farmacocinética, toxicidad y perfil de interacciones.

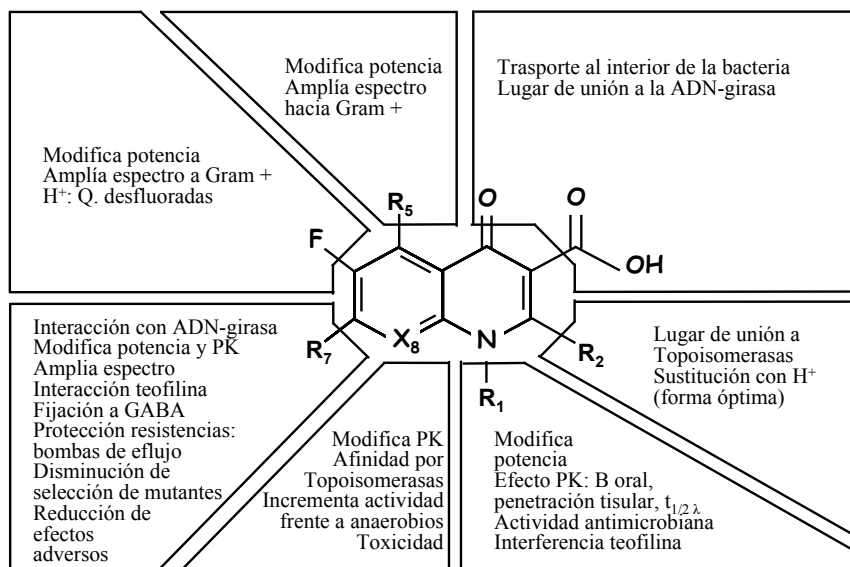


Fig. 4.- Radicales con posibilidad de cambios y propiedades que se modifican.

- La sustitución en la posición 1 es una sustitución variable pero esencial. Modifica la potencia y actividad antimicrobiana y tiene efecto sobre la farmacocinética del compuesto (biodisponibilidad oral, penetración tisular y semivida de eliminación prolongada). También controla la interferencia con la teofilina.

Comúnmente esta sustitución se realizan con grupos ciclopropilo y terbutilo, que mejora la actividad tanto frente a gram-positivos como gram-negativos (ciprofloxacino, esparfloxacino, grepafloxacino, clinafloxacino, moxifloxacino, gatifloxacino y gemifloxacino) y micobacterias. Además sitafloxacino tienen un flúor unido al ciclopropilo con grupos 2,4-difluorofenilo, que aumenta la actividad frente a gram-positivos, sobre todo frente a *S. pneumoniae*, ya que este grupo desempeña un papel importante en la expresión del efecto postantibiótico y el efecto bactericida (tosufloxacino, trovafloxacino y temafloxacino).

- La sustitución en la posición 2 está íntimamente ligada al lugar de unión a las topoisomerasas por lo que los radicales deben ser de pequeño volumen, ya que la presencia de radicales voluminosos inhibiría el acceso al lugar de fijación. Se ha probado un carbono unido a un hidrogeno (es la mejor y la que presentan la mayoría de las quinolonas), un nitrógeno (cinoxacino, pero determina una menor actividad y por eso no se ha desarrollado) o un átomo de azufre (no desarrollado).

- La sustitución en las posiciones 3 y 4 debe ser un grupo carboxilo y un oxígeno respectivamente, puesto que son esenciales para el transporte al interior de la bacteria y para la unión de las topoisomerasas. En este lugar las quinolonas se unen al calcio, hierro, magnesio, etc., y determinan una disminución en su absorción.

- La sustitución en la posición 5 influye alterando la configuración estérica de la molécula, afectando a su actividad, aunque está fuertemente influenciada por las sustituciones en otras posiciones. La mayoría de las quinolonas clásicas presentan un átomo de hidrogeno en esta posición. La presencia de un grupo amino incrementa la actividad frente a gram-positivos y frente a *Toxoplasma gondii*. Menos potencia se obtiene con la presencia de grupos hidroxilo o metilo. La presencia de radicales voluminosos (metoxi o átomos de halógeno) disminuye la actividad intrínseca de la molécula, probablemente por interacción con las posiciones 3 y 4. De todas formas, hay que tener en cuenta que no todas las modificaciones que han mostrado eficacia *in vitro* reflejan un aumento de actividad *in vivo*.

- La sustitución en la posición 6 puede realizarse con un nitrógeno, que no admite sustituciones, o un carbono que permite la introducción de otro radical. La presencia de un átomo de flúor mejora de cinco a cien veces la actividad intrínseca de la molécula, dando lugar a las fluoroquinolonas. Por tanto, estas fluoroquinolonas son derivados fluorados del ácido 3-carboxílico de la 4-quinolona

o de la 4-naftiridona, ya que en el caso de las piridopirimidinas el nitrógeno en esta posición impide la fluoración con la consiguiente disminución de la actividad.

Actualmente están en desarrollo nuevas quinolonas que presentan un átomo de hidrogeno en posición 6 en lugar del átomo de flúor. Son las llamadas desfluoroquinolonas, en las que las sustituciones en posición 1, 7 y 8 van a ser determinantes para su actividad antimicrobiana. Entre ellas, la molécula más desarrollada es BMS-284756 (garenoxacino) que presenta dos átomos de flúor incorporados en difluorometilo en el radical 8. Tiene el mismo espectro de actividad que las fluoroquinolonas clásicas aunque son ligeramente menos activas frente a gram-negativos y más activas frente a gram-positivos, incluido *Streptococcus pneumoniae* (resistente al ciprofloxacino) y *Staphylococcus aureus* (resistente a la meticilina). Además también es activo frente a gran parte de anaerobios y microorganismos intracelulares.

Otro grupo de agentes con nuevos sustituyentes en esta posición son los 6-amino, 8-metilquinolonas que aumentan su actividad frente a gram-positivos. La presencia de una tetrahidroisoquinolona en C₇ parece ser la más útil de las 6-aminoquinolonas, con actividad de cuatro a cien veces más que la ciprofloxacina.

En cuanto a las sustituciones variables, se podría hablar de unas posiciones esenciales en la actividad y las propiedades farmacocinéticas (R₁ y R₇) y de unas sustituciones accesorias que corresponderían a los radicales R₅ y X₈.

- La sustitución en la posición 7, igual que las realizadas en 1, son variables pero no esenciales. Esta posición interactúa directamente con la ADN-girasa o topoisomerasa II. Son importantes en la farmacocinética y controlan las interacciones con la teofilina y la fijación a los receptores GABA. La presencia de grupos heterocíclicos nitrogenados de cinco o seis átomos se corresponde con una mayor actividad antimicrobiana. Los más comunes son las aminopirrolidinas (5 átomos), piperacinas (6 átomos) o los azabiciclos derivados de la aminopirrolidina. En general, la presencia de este último mejora la actividad frente a gram-negativos. Los metil derivados de piperacinas también la mejoran y además aumentan la solubilidad y determinan una semivida de eliminación más prolongada.

La última de las modificaciones en la cadena lateral de C₇ es la presencia de un segundo anillo fusionado a la pirrolidona. Este es el caso de moxifloxacino y trovafloxacino, que poseen mejor actividad frente a gram-positivos.

Recientemente se ha conocido que la adición de radicales voluminosos en C₇ parece conferir protección frente a la resistencia mediada por bombas de flujo externo, posiblemente como resultado del aumento de hidrofobicidad de la molécula, como demuestra el hecho de que moxifloxacino no ve alterada su actividad en presencia de reserpina. Además la presencia de estos radicales disminuye la probabilidad de selección de mutaciones en cepas silvestres y aumenta la actividad frente a anaerobios. También el radical en C₇ va a influir en determinar la diana principal de la quinolonas, al menos en *S. pneumoniae*.

Los sustituyentes C_7 alquilados disminuyen la producción de efectos adversos, como el riesgo de cristaluria, debido a que aumentan la hidrosolubilidad del compuesto a pH fisiológico (Bryskier y Chantot, 1995; Boswell y Wise, 1998).

Por tanto, se puede concretar que la mejor sustitución en C_7 para aumentar la actividad frente a gram-negativos es la piperacina, seguida de las aminopirrolidinas, las amino-metil-oximino-pirrolidina, los azabiciclos, los 3-metil-piperacinas y finalmente las dimetilpiperacinas.

- La sustitución en la posición 8 va a influir en la configuración estérica de la molécula, lo que puede implicar un cambio en la afinidad de la quinolona por una u otra topoisomerasa. También afecta a la actividad frente a anaerobios, a la farmacocinética, a la fototoxicidad y a la genotoxicidad de la molécula. En posición X_8 puede existir un carbono (4-quinolonas) o bien un nitrógeno (4-naftiridonas: en este no se pueden añadir más radicales ya que todas las valencias del nitrógeno están ocupadas). En las 4-quinolonas la presencia de un átomo de cloro o de flúor aumenta la actividad frente a anaerobios, pero también aumenta la fototoxicidad, lo que ha condicionado la suspensión de su comercialización. La presencia de un grupo metoxi o metilo mejora la actividad frente a gram-positivos y anaerobios aumentando también el poder bactericida.

La presencia de uno u otro radical en C_8 parece determinar qué topoisomerasa es la diana principal de cada quinolona, al menos en los gram-positivos. La presencia de un hidrogeno (ciprofloxacino) o bien de un puente N_1 y C_8 (ofloxacino y levofloxacino) confiere mayor afinidad por la topoisomerasa IV. Por el contrario, la presencia de un átomo de cloro o de flúor va a determinar una mayor afinidad por la ADN-girasa (topoisomerasa II) (Gutiérrez-Zufiaurre, N., 2004).

I.3.2.1.- Estructura química de la marbofloxacina

La fórmula química de la marbofloxacina es (9-fluoro-2,3dihidro-2-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-oxo-7-H-pirido [3,2,1-ij] [4, 1, 2] benzosadiacina-6-ácido carboxílico, su fórmula molecular es $C_{17}H_{19}FN_4O_4$ y su peso molecular $362,4 \text{ g.mol}^{-1}$.

El incremento de la potencia por la sustitución con un átomo de flúor en C_6 , se acompaña de la introducción de un anillo piperacínico (N-metil piperacina) en C_{10} y un átomo de oxígeno en posición 1, que da origen a un ciclo oxadiacínico. El ciclo piperacínico mejora la formación del complejo ADN-ADN-girasa así como la penetración en la célula bacteriana. La adición del grupo metilo en posición "para" del anillo piperacínico aumenta la liposolubilidad del fármaco y, con ello, el volumen de distribución. El anillo oxadiazínico confiere a la molécula características farmacocinéticas como prolongada semivida de eliminación y buena biodisponibilidad a la vez que aumenta el espectro frente a bacterias gram-positivas y anaerobios. Además, el núcleo tricíclico confiere mayor estabilidad metabólica al compuesto (Neuman, M., 1987ab).

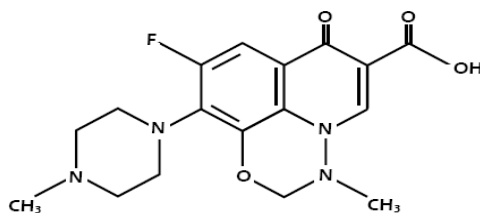


Fig. 5.- Estructura química de la marbofloxacin.

I.3.2.2.- Estructura química de la enrofloxacin

La fórmula química de la enrofloxacin es (3 ácido quinolinocarboxílico, 1-ciclopropil-7-(4-etil-1-piperacínil)-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo), su fórmula molecular es $C_{19}H_{22}FN_3O_3$, y su peso molecular es $359,40 \text{ g.mol}^{-1}$, lo que favorece su penetración tisular. En la posición 7 tiene un anillo 4-metilo-piperazin-1-il, cuyo volumen espacial le confiere mayor potencia con respecto a aquellas quinolonas que tienen moléculas lineales en esa posición. Además posee un grupo etilo en posición 4 que aumenta la absorción digestiva y la disponibilidad (Abadía, A.R., 1991) y hace que la enrofloxacin alcance el doble de la concentración plasmática de la ciprofloxacin, que tiene una estructura similar pero carece de este radical (Sumano López, H., 1993). En su punto isoeléctrico tiene la menor solubilidad y la mayor lipofiliidad (Dorfman y col., 1995). La molécula es bastante estable a la temperatura (hasta aproximadamente 50°C) pero inestable frente a la luz.

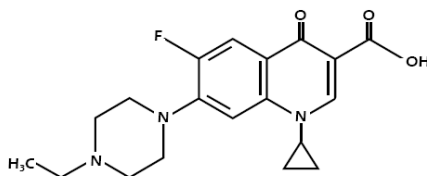


Fig. 6.- Estructura química de la enrofloxacin.

I.3.3.- Propiedades fisicoquímicas

Las fluoroquinolonas son sustancias anfóteras de baja hidrosolubilidad y que pueden precipitar en medio ácido. Estas propiedades son debidas a que las quinolonas tienen dos grupos funcionales ionizables farmacéuticamente relevantes: el ácido carboxílico y un nitrógeno protonable. La asociación de estos grupos tiene un importante efecto en la solubilidad y el coeficiente de partición. Las quinolonas pueden existir en cuatro formas distintas a medida que varía el pH de la solución: un catión (H_2Q^+), una especie neutra (HQ^0), un zwitterión (HQ^\pm) y un anión (Q^-).

Las constantes de disociación (K_1 y K_2) están definidas por las siguientes ecuaciones:

$$K_1 = [\text{HQ}][\text{H}^+]/[\text{H}_2\text{Q}^+]$$

$$K_2 = [\text{Q}^-][\text{H}^+]/[\text{HQ}]$$

$$\text{Dónde } [\text{HQ}] = [\text{HQ}^0] + [\text{HQ}^\pm]$$

A un pH determinado se pueden obtener las fracciones de las distintas especies a partir de las siguientes ecuaciones:

$$f(\text{H}_2\text{Q}^+) = [\text{H}^+]^2 / \{[\text{H}^+]^2 + K_1[\text{H}^+] + K_1K_2\}$$

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

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

Si la constante de disociación de la amina es mayor que la del ácido carboxílico, la forma HQ va a predominar como forma neutra (HQ^0). Si es menor, predomina en forma de zwitterión (HQ^\pm). En solución, las formas H_2Q^+ y Q^- , predominarán a valores de pH altos y bajos, respectivamente, y [HQ] alcanza el máximo cuando el pH = PI, siendo $\text{PI} = (\text{p}K_1 + \text{p}K_2)/2$ el punto isoeléctrico del compuesto (Riley y col., 1989).

La solubilidad de las quinolonas está determinada por el pH de la solución (mínima solubilidad cuando [HQ] es máxima, o sea en el PI) y limitada por la solubilidad intrínseca (S_0) de las especies sin carga (HQ) y está descrita por la ecuación:

$$S = S_0 (1 + K_2/[\text{H}^+] + [\text{H}^+]/K_1)$$

De todo esto se deduce que las constantes de disociación de las quinolonas ayudan a definir tanto el estado de ionización del compuesto a un pH dado, como el perfil de solubilidad del mismo en función del pH en el que se encuentre. Los perfiles solubilidad-pH de las quinolonas tienen forma de U o V con el mínimo centrado en el punto isoeléctrico.

En el caso del ácido nalidíxico, el $\text{p}K_{a1}$ de 0,94 determinado por espectrofotometría, corresponde a la disociación del nitrógeno heterocíclico protonado, mientras que el $\text{p}K_{a2}$ de 6,02 corresponde a la disociación del grupo ácido carboxílico. La mayoría de las quinolonas nuevas tienen constantes de disociación para el grupo carboxilo similares a la del ácido nalidíxico ya que la sustitución en la posición 7 parece tener poco efecto sobre la disociación del grupo carboxilo. Estas nuevas quinolonas tienen un grupo funcional básico en posición 7, como, por ejemplo, el grupo piperacínico, que posee un pKa mucho más elevado que el del nitrógeno heterocíclico del ácido nalidíxico. El resto de los nitrógenos

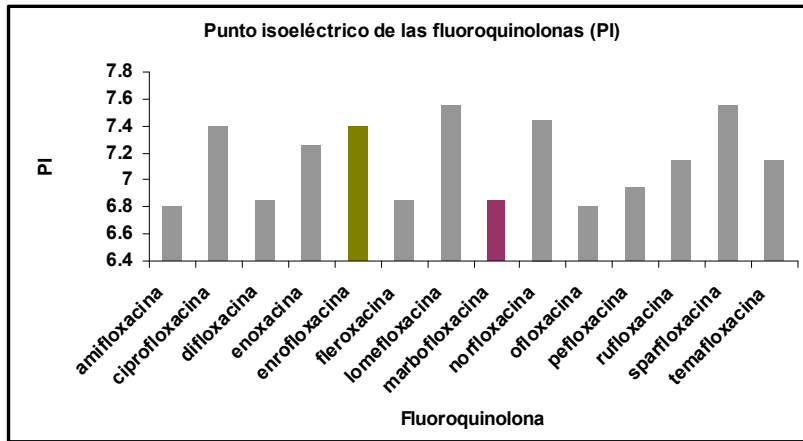
son tan débilmente básicos que no revisten importancia. Los valores de pKa para la mayoría de las fluoroquinolonas están alrededor de 5,46 y 6,32 para el grupo carboxilo y entre 5 y 9 para la amina básica, dependiendo de la naturaleza química de la cadena lateral (Riley y col., 1989; Sörgel y Kinzig, 1993).

La marbofloxacinina presenta pKa de 5,5 y 8,2, con un punto isoeléctrico de 6,85 y la enrofloxacinina presenta un pKa de 6,0 y 8,8 con un punto isoeléctrico de 7,4.

Las fluoroquinolonas son por tanto ácidos orgánicos débiles, por lo que entre pH 6 y pH 8, aproximadamente, predominan en forma no ionizada. Al estar sólo levemente ionizados a pH sanguíneo son suficientemente liposolubles como para penetrar bien en los tejidos. A pH fisiológico la solubilidad en agua es baja, variando según la quinolona. Por su carácter anfótero son solubles tanto en soluciones ácidas como básicas (Vancutsem y col., 1990). Las preparaciones para administración parenteral contienen sales solubles del fármaco que son estables como polvo y en solución acuosa y que deben ser almacenadas protegidas de la luz. Los cationes multivalentes (magnesio, aluminio, calcio, zinc) producen quelación, lo que reduce la absorción enteral de las quinolonas (El Bahri y Blouin, 1991).

Tabla 1.- Constante de disociación ácida (pKa) y punto isoeléctrico (PI) de algunas fluoroquinolonas (Sörgel y Kinzig, 1993).

FLUOROQUINOLONA	pKa	PI
amifloxacinina	6,3-7,3	6,8
ciprofloxacinina	6,0-8,8	7,4
difloxacinina	6,1-7,6	6,85
enoxacinina	6,0-8,5	7,25
fleroxacinina	5,7-8,0	6,85
lomefloxacinina	5,8-9,3	7,55
marbofloxacinina	5,5-8,2	6,85
norfloxacinina	6,2-8,7	7,45
enrofloxacinina	6,0-8,8	7,4
ofloxacinina	5,7-7,9	6,8
pefloxacinina	6,3-7,6	6,95
rufloxacinina	5,6-8,7	7,15
sparfloxacinina	6,3-8,8	7,55
temafloxacinina	5,6-8,7	7,15



Gráfica 1.- Punto isoeléctrico de fluoroquinolonas (PI).

I.3.4.- Mecanismo de acción

Las quinolonas son antimicrobianos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos de los microorganismos. Las bacterias tienen un tamaño aproximado de $1 \times 2 \mu\text{m}$, mientras que su ADN tiene una longitud de $1300 \mu\text{m}$. El cromosoma bacteriano está subdividido en 50-60 dominios; cada dominio tiene cerca de $20 \mu\text{m}$ de longitud y está ligado o conectado a un núcleo de ARN. Para reducir su tamaño, el cromosoma bacteriano tiene que sufrir un enrollamiento (superenrollamiento) negativo y para poder realizar este proceso tienen que intervenir una serie de enzimas, las topoisomerasas. La topoisomerasa II, conocida en las células procariotas como ADN-girasa está compuesta por cuatro subunidades: 2 monómeros A y 2 monómeros B. Existe uno de estos tetrámeros por dominio. Las subunidades A introducen primero un corte en cada hebra de ADN cromosómico dentro de cada dominio. A continuación, las subunidades B se encargan de introducir el superenrollamiento, utilizando una molécula de ATP para cada giro del enrollamiento que producen. El número de giros que se da por dominio para producir la compactación es aproximadamente 400. Por último, las subunidades A vuelven a actuar sellando los cortes dentro de cada dominio (Smith y Lewin, 1988).

Las quinolonas, al unirse selectivamente a la ADN-girasa, no evitan la unión de la girasa al ADN ni la ruptura del mismo (Wolfson y Hooper, 1989), pero sí impiden que las enzimas sellen los lugares donde inicialmente se introdujeron los cortes en el ADN cromosómico; además inhiben el superenrollamiento negativo del ADN, produciendo por tanto la interrupción de los procesos de replicación, transcripción, reparación, recombinación y transposición del ADN bacteriano.

Por otra parte, las fluoroquinolonas poseen una segunda diana intracelular en las células bacterianas, la topoisomerasa IV. Esta enzima, de estructura similar a la ADN-girasa o topoisomerasa II, no interviene en el superenrollamiento, pero es

esencial para la relajación ATP-dependiente del ADN y su segregación (separación de cromátidas hermanas) (Hooper, D.C., 1998).

Parece que existen diferencias en el grado en que cada una de estas enzimas se ve alterada dependiendo de los microorganismos considerados. Algunos autores señalan, que para el caso de bacterias gram-negativas como *Escherichia coli* o *Neisseria gonorrhoeae*, la enzima diana principal es la ADN-girasa, mientras que en otras, como *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus pneumoniae*, la enzima más sensible es, generalmente, la topoisomerasa IV (Boswell y Wise, 1998; Hooper, D.C., 1998).

Se ha observado, que las mutaciones que afectan a la subunidad B de la ADN-girasa, también inducen modificaciones en la sensibilidad bacteriana a las fluoroquinolonas, y por tanto, parecería que las fluoroquinolonas podrían afectar no sólo a la subunidad A, sino también a la subunidad B (Hooper, D.C., 1998; Smith y Lewin, 1988).

Además de bloquear la síntesis de ADN, la presencia de cortes no unidos en las ramas del ADN como consecuencia de la inhibición del resellado de las hebras de ADN por acción de las quinolonas, actúa como señal de inducción del sistema "SOS" de reparación del mismo, formándose endonucleasas capaces de destruir al ADN, hecho que explicaría el mecanismo de acción bactericida de estos compuestos (Vancutsem y col., 1990; Lecoeur Bitchatchi y Kolf Clauw, 1998, Neuman, M., 1988).

Las fluoroquinolonas causan una rápida muerte de las bacterias, con una tasa y magnitud que aumenta a medida que aumenta su concentración, hasta que alcanza un máximo ("concentración bactericida máxima") aproximadamente a una concentración de 15 a 20 veces la concentración inhibitoria mínima (MIC). A partir de este máximo, la tasa de muerte bacteriana puede disminuir y las fluoroquinolonas pueden exhibir una curva concentración-respuesta bifásica conocida como efecto paradójico o efecto "eagle". Este efecto paradójico es causado por la inhibición de la síntesis de ARN a altas concentraciones del antimicrobiano (200 veces la MIC), produciéndose una bacteriostasis (Smith y Lewin, 1988; El Bahri y Blouin, 1991; Boswell y Wise, 1998; Lecoeur Bitchatchi y Kolf Clauw, 1998; Walker y Dowling, 2006). Esta curva concentración-respuesta bifásica, con una primera fase en la que el número de bacterias muertas aumenta al aumentar la concentración del antimicrobiano, y una segunda fase en la que sucede lo contrario, se observa solamente en exposiciones cortas al antimicrobiano (Vancutsem y col., 1990). Este hecho se relaciona con la inhibición de la síntesis de ARN y con la interrupción de la producción de endonucleasas que debe estar precedida necesariamente por la síntesis del ARN.

La topoisomerasa II de los eucariotas, a diferencia de la ADN-girasa bacteriana, no se ve tan afectada por las fluoroquinolonas, probablemente debido a las diferencias estructurales y funcionales existentes entre las dos enzimas (Smith y Lewin, 1988; Brown, S.A., 1996). No obstante, la actividad de las fluoroquinolonas

sobre la topoisomerasa II de mamíferos ha sido asociada con genotoxicidad. Brown, S.A. (1996) y Gootz y col., (1994) indican que las quinolonas con configuración **cis**-3,5-dimetilpiperacina en C₇ poseen mayor selectividad por la ADN-girasa bacteriana que el análogo **trans** -3,5-dimetilpiperacina, y que la concentración necesaria para inhibir las enzimas de la replicación de los mamíferos sería unas 100 veces mayor que la concentración que inhibe los correspondientes enzimas bacterianas, lo que daría como resultado un amplio margen de seguridad para las fluoroquinolonas (Vancutsem y col., 1990).

Las fluoroquinolonas entran en las bacterias a través de las porinas y se acumulan rápidamente en el interior de las bacterias susceptibles. Son también capaces de penetrar eficazmente en las células fagocíticas y de permanecer microbiológicamente activas en su interior. Algunos microorganismos gram-positivos son capaces de expulsar fuera de la célula bacteriana a estos antimicrobianos, mediante un sistema de transporte dependiente de energía.

El efecto de las fluoroquinolonas sobre la proliferación bacteriana sugiere tres mecanismos de muerte celular (Walker y Dowling, 2006):

Mecanismo A: es común a todas las fluoroquinolonas. Requiere ARN y síntesis de proteínas y sólo es efectiva contra bacterias que están división. Este mecanismo parece involucrado en el bloqueo de la replicación de la ADN-girasa.

Mecanismo B: no requiere ARN ni síntesis de proteínas y puede actuar sobre las bacterias que no están multiplicándose. Está relacionado con la deslocalización de las subunidades de la girasa que limitan el complejo ternario.

Mecanismo C: requiere ARN y síntesis de proteínas, pero no requiere división celular. Está relacionado con el atrapamiento del complejo de la topoisomerasa IV sobre el ADN.

I.3.5.- Farmacocinética

Las quinolonas presentan comportamientos cinéticos diferentes según su estructura química o la generación a la que pertenecen. En general, las quinolonas de primera generación no presentan una elevada absorción en el tracto gastrointestinal y sufren un rápido aclaramiento principalmente por vía renal, lo cual limita su uso al tratamiento de infecciones urinarias y entéricas.

Las fluoroquinolonas, en cambio, tienen una buena absorción oral en los animales (a excepción de los rumiantes y équidos) con una alta biodisponibilidad oral y una casi completa absorción parenteral y amplia distribución tisular (incluyendo fagocitos) en la mayoría de las especies. El átomo de flúor en C₆ y el anillo piperacínico en C₇ mejoran la penetración celular con respecto a las antiguas quinolonas (Mitscher y col., 1989; Percival, A., 1991; Boswell y Wise, 1998) y las cadenas alquiladas en posición “*para*” del anillo piperacínico aumentan la liposolubilidad (Vancutsem y col., 1990) (Ver I.3.2). La baja unión a proteínas

plasmáticas, que generalmente presentan estos compuestos, da lugar a valores mayores en el volumen de distribución de las fluoroquinolonas con respecto a las quinolonas clásicas.

En cuanto a la eliminación, las fluoroquinolonas se eliminan por vía renal y/o biotransformación hepática y la participación de cada una de estas vías varía dependiendo de cada compuesto. Las semividas de eliminación son relativamente largas.

I.3.5.1.- Farmacocinética de las fluoroquinolonas en especies no rumiantes

I.3.5.1.1.- Biodisponibilidad

Biodisponibilidad oral

La absorción oral de las fluoroquinolonas es elevada y rápida en animales con estómago monocavitario (a excepción de los équidos) y prerrumiantes. En éstos, la biodisponibilidad (F) oral puede variar entre el 50 % y el 90 % dependiendo de la especie y de la molécula considerada (Fitton, A., 1992).

La administración oral de moxifloxacina fue estudiada en conejos obteniendo valores del 75 %. La ciprofloxacina tiene una biodisponibilidad oral entre el 50 y 70 % en cerdos y pollos, mientras que en caballos es del 6,8 %. Algo similar ocurre con la norfloxacina en burros, con un valor de 9,6 %, y por debajo del 50 %, prácticamente en todas las especies estudiadas a excepción de los pollos.

En todas las especies la administración conjunta de compuestos que contengan cationes multivalentes (antiácidos, leche o sustitutivos lácteos) disminuye su biodisponibilidad oral. La ingestión conjunta de alimentos puede retrasar la absorción de las fluoroquinolonas, aunque no parece modificar la cantidad absorbida (El Bahri y Blouin, 1991; Fitton, A., 1992; Brown, S.A., 1996). Los incrementos de la dosis oral generalmente producen incrementos lineales en las concentraciones plasmáticas.

Las concentraciones máximas (C_{max}) obtenidas oscilan desde 0,22 µg/ml en los pollos tras la administración oral de norfloxacina hasta casi los 3 µg/ml de la ciprofloxacina para la misma especie.

El tiempo que tarda en alcanzarse la mayor concentración plasmática (T_{max}), obtenido tras la administración oral, va a variar según la quinolona y la especie de que se trate, oscilando desde las 0,22 horas de la norfloxacina en pollos hasta las 2,84 horas para la difloxacina en los perros.

Tabla 2.- Concentración máxima (C_{max}), tiempo máximo (T_{max}) y biodisponibilidad (F) oral en especies no rumiantes (5 mg/kg).

QUINOLONA	ESPECIE	C_{max} (μ g/ml)	T_{max} (h)	F(%)	AUTOR
ciprofloxacina	pollos	1,24-2,68	0,37-1,27	29,4-68	Anadón y col., 2001 ² Iturbe y col., 1997 ² Atta y Sharif, 1997 ² El-Gendi y col., 2001 ³
	caballos	x	x	6,8	Dowling y col., 1995
	cerdos	x	x	51	Fang y col., 1999
danofloxacina	pollos	0,47-0,55	1,5-2,43	81,4-99,2	El-Gendi y col., 2001 Knoll y col., 1999
	cerdos	x	x	89	Mann y Frame, 1992
difloxacina	perros	1,11-1,79	2,17-2,84	x	Heinen, 2002 Frazier y col., 2000
moxifloxacina	patos	0,22	1,83	86,79	Goudah y col., 2010
	conejos	1,29	0,55	75,49	Fernández-Varón y col., 2005
norfloxacina	pollos	0,22	0,22	57	Anadón y col., 1992
	cerdos	1,46	1,46	37	Anadón y col., 1995b Nouws y col., 1988
	ratas	x	x	33	Freixas y col., 1997
	conejos	x	x	26-37	Nouws y col., 1988 Park y col., 1997
	burros	x	x	9,6	(nicotinato) Lavy y col., 1995
orbifloxacina	perros	1,37	2,42	x	Heinen, 2002 ¹

¹ 2,5 mg/kg; ² 8 mg/kg; ³ 10 mg/kg

Biodisponibilidad parenteral

La biodisponibilidad, tras la administración parenteral, es generalmente completa (a excepción de la norfloxacina, donde no se alcanzan valores superiores al 64 %), si bien, tras la administración intramuscular de algunas formulaciones puede producirse un retraso en la absorción, que en ocasiones se acompaña de un incremento en la semivida de eliminación. Esta lenta absorción desde el lugar de inyección puede deberse, tanto a la posibilidad de unión del fármaco a los tejidos, como a la alteración en el flujo sanguíneo consecutiva a la irritación tisular.

Algunas especies como los équidos son muy sensibles a la administración intramuscular de algunas formulaciones, pudiendo producir un elevado grado de irritación tisular y absorciones erráticas, por lo que en esta especie se recomienda la administración intravenosa. Cabe destacar la baja biodisponibilidad en burros (31 %) y en caballos (47,81 %) tras la administración de norfloxacina vía intramuscular. Para el resto de las fluoroquinolonas y de especies, la biodisponibilidad intramuscular es superior al 75 % llegando incluso al 100 %.

La administración subcutánea de fluoroquinolonas está siendo cada vez más utilizada ya que los estudios realizados demuestran que esta vía puede ser adecuada en la mayoría de las especies al proporcionar biodisponibilidades completas y

minimizar los riesgos de alteraciones musculares, alcanzando el 100 % en algunas especies.

Tabla 3.- Concentración máxima (C_{max}), tiempo máximo (T_{max}) y biodisponibilidad (F) parenteral en especies no ruminantes (5 mg/kg).

QUINOLONA	VÍA	ESPECIE	C_{max} (μ g/ml)	T_{max} (h)	F(%)	AUTOR
ciprofloxacina	IM	pollos	2,92	0,55	75,5	El-Gendi y col., 2001 ³
danofloxacina	IM	pollos	1,03	0,8	96,56	El-Gendi y col., 2001
		conejos	1,87	0,67	102,34	Fernández-Varón y col., 2007 ²
	SC	conejos	1,79	0,68	96,44	Fernández-Varón y col., 2007 ²
moxifloxacina	IM	patos	2,38	1,47	96,36	Goudah y col., 2010
		conejos	1,64	0,50	92,96	Fernández-Varón y col., 2005
norfloxacina	IM	cerdos	x	x	51	Shem-Tov y Ziv, 1994
		burros	x	x	31	Lavy y col., 1995
		caballos	x	x	47,81	Park y col., 1994
		conejos	x	x	53	Park y col., 1997
	SC	cerdos	x	x	64	Shem-Tov y Ziv, 1994
ofloxacina	SC	conejos	x	x	116,7	Marangos y col., 1997

¹ 1,25 mg/kg; ² 6 mg/kg; ³ 10 mg/kg

Tanto las concentraciones máximas como el tiempo en que esta tarda en alcanzarse son uniforme en todas las especies.

I.3.5.1.2.- Distribución

Las fluoroquinolonas presentan, en general, una tasa de unión a las proteínas plasmáticas relativamente baja, alrededor del 10 % al 60 %, en contraste con el 90 % de unión del ácido nalidíxico (Fitton, A., 1992). En contraste, Abd-el-Aty y col., (2007) indican que la unión a proteínas plasmáticas de la moxifloxacina en camellos puede llegar al 93 %. Entre las proteínas séricas, las quinolonas se unen principalmente a las albúminas (Okezaki y col., 1989). La unión varía, dependiendo de la estructura química de la fluoroquinolonas y de la especie estudiada, debido principalmente a la diferente afinidad del fármaco por las respectivas albúminas (Izumi y Kitagawa, 1989; Bregante y col., 2000).

Ciprofloxacina, danofloxacina, difloxacina, orbifloxacina, sarafloxacina y norfloxacina presentan una unión a proteínas plasmática que oscila desde el 10 % al 49%, siendo esta menor en ruminantes y prerruminantes y mayor en cerdos. Moxifloxacina es la fluoroquinolona que presenta un mayor porcentaje de unión a proteínas plasmáticas, superior en todas las especies al 60 %.

Tabla 4.- Unión a proteínas plasmáticas de fluoroquinolonas.

QUINOLONA	ESPECIE	UNIÓN A PROTEINAS (%)	AUTOR
ciprofloxacina	vacas	18-30	Bidgood y Papich, 2005 Martínez y col., 2006 Davis y col., 2007
	caballos, cerdos, perros, conejos y pollos	30-40	Villa y col., 1997
danofloxacina	vacas	10-49	Aliabadi y col., 2003 Sarasola y col., 2002 Greko y col., 2003
	terneros y pollos	20-30	Bregante y col., 2000
	cerdos	44	Cox, S.K., 2007 Bregante y col., 2000
	cabras	13	Atef y col., 2001
	perros	35-40	Bregante y col., 2000
difloxacina	vacas	32-37	Cox, S.K., 2007
	perros	46-25	Frazier y col., 2000
	corderos	13	Goudah y col., 2008
	dromedarios	28-43	Abo-El-Sooud y Goudah., 2009
	conejos	21	Cox, S.K., 2007
	cabritos	10	Goudah y col., 2008
	cabras	13-14	Cox, S.K., 2007 Atef y col., 2002
moxifloxacina	ratones	69	Martínez y col., 2006
	ratas	63	
	perros	71	
	patos	32	Goudah y col., 2010
	monos	62	Martínez y col., 2006
	cerdos	63	
	camellos	60-93	Abd-el-Aty y col., 2007
orbifloxacina	vacas y perros	30	Bregante y col., 2000
sarafloxacina	pollos	30	Bregante y col., 2000
norfloxacina	vacas	20	Gips y Soback, 1999
	cerdos	10	Bregante y col., 2000
	pollos	5	

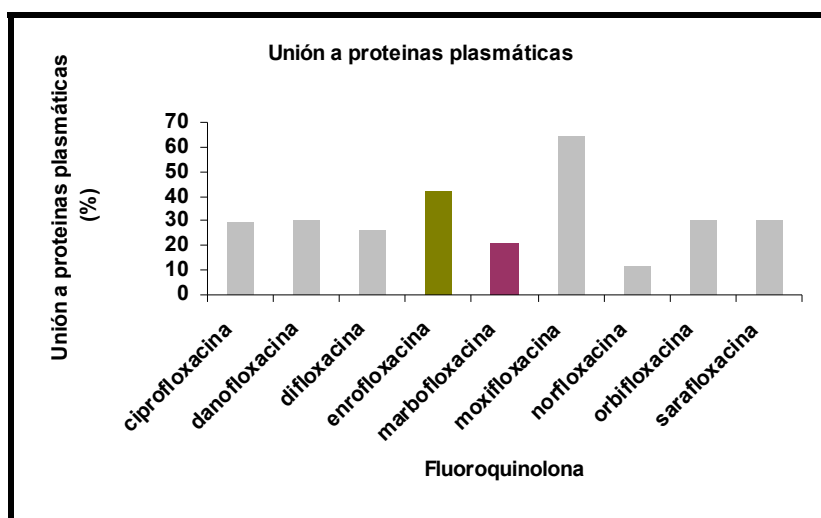
Marbofloxacina y enrofloxacina tienen una unión a proteínas plasmáticas muy similar a otras fluoroquinolonas, siendo mayor en conejos (70 %) y menor en perros (10 %).

Tabla 5.- Unión a proteínas plasmáticas de la marbofloxacina.

ESPECIE	UNIÓN A PROTEINAS (%)	AUTOR
búfalos	22-24	Goudah y col., 2007
vacas	30	Aliabadi y Lees., 2002
perros	10-25	Regnier y col., 2003 Frazier y col., 2000; Bregante y col., 2000
cerdos	18,4	Petracca y col., 1993ab

Tabla 6.- Unión a proteínas plasmáticas de la enrofloxacin.

ESPECIE	UNIÓN A PROTEINAS (%)	AUTOR
vacas, ratones, ratas	46-59	Davis y col., 2007; Idowu y col., 2010 Villa y col., 1997; Bregante y col., 2000
conejos	70	Villa y col., 1997; Bregante y col., 2000
perros, gatos pavos, cerdos	30	Frazier y col., 2000; Villa y col., 1997 Bregante y col., 2000
ovejas	22-45	Rahal y col., 2006
caballos, pollos	20	Villa y col., 1997; Bregante y col., 2000



Gráfica 2.- Unión a proteínas plasmáticas de las fluorocinolonas.

La baja unión de estos compuestos a proteínas plasmáticas, junto con el hecho de estar poco ionizados a pH sanguíneo, favorece la difusión de los mismos desde la sangre a los tejidos (Fitton, A., 1992). En la mayoría de las especies, el volumen de distribución (Vd) es mayor que para los β -lactámicos y aminoglucósidos, lo que podría representar el secuestro intracelular de estos fármacos en varios tejidos (Brown, S.A., 1996). El volumen de distribución de las fluorocinolonas (Vd) presenta valores elevados, generalmente superiores a 1 l/kg, que varían según la quinolona, la vía de administración y la especie. El menor volumen de distribución se observa en caballos y el mayor en pollos.

Tabla 7.- Volumen de distribución (Vd) en especies no rumiantes (5 mg/kg).

QUINOLONA	VÍA	ESPECIE	Vd(L/kg)	AUTOR
ciprofloxacina	IV	pollos	1,8-4,2	García-Ovando y col., 1997-1999 Anadón y col., 2001 ³
		monos	1,8	Cox y col., 2004
		perros	1,9-3,1-4,9	Cester y Toutain, 1997; Cox y col., 2004
		cerdos	3,8	Cox y col., 2004
		ratas	4,6	Cox y col., 2004
		conejos	3,8	Cox y col., 2004
	IM	pollos	1,41	El-Gendi y col., 2001 ⁴
VO	pollos	5,7	Anadón y col., 2001 ³	
danofloxacina	IV	pollos	10,2	Knoll y col., 1999
		cerdos	3,26-5,2	Cox, S.K., 2007; Richez y col., 1997b ¹
		conejos	3,16-7,3	Cox, S.K., 2007; Fernández-Varón y col., 2007 ²
		caballos	2	Cox, S.K., 2007
IM	pollos	2,21	El-Gendi y col., 2001	
difloxacina	IV	conejos	2	Cox, S.K., 2007
		caballos	1	Cox, S.K., 2007
moxifloxacina	IV	patos	1,02	Goudah y col., 2010
		cerdos	3,8	Cox, S.K., 2007
		monos	4,9-5-3	Cox, S.K., 2007
		perros	2,7	Cox, S.K., 2007
		conejos	1,95-2,1	Fernández-Varón y col., 2005; Cox, S.K., 2007
		ratas	3,6	Cox, S.K., 2007
		ratones	3,7	Cox, S.K., 2007

¹ 2,5 mg/kg; ² 6 mg/kg; ³ 8 mg/kg; ⁴ 10 mg/kg

La concentración en tejido renal, hepático, genital y traqueobronquial es superior a las concentraciones plasmáticas (El Bahri y Blouin, 1991; Fitton, A., 1992; Mann y Frame, 1992; Friis, C., 1993; Brown, S.A., 1996). En cerdos (y vacas), tras la administración intramuscular de danofloxacina, se encontraron concentraciones en tejido pulmonar que superaron en 4-7 veces las concentraciones plasmáticas y que persistían hasta 12 horas después de la administración (Mann y Frame, 1992; Giles y col., 1991). En perros se encontraron concentraciones de enrofloxacin en bilis y orina 10-20 veces mayores que las concentraciones registradas en plasma (Brown, S.A., 1996).

También se encuentran elevadas concentraciones en piel, hueso, próstata, líquido prostático y semen (El Bahri y Blouin, 1991; Brown, S.A., 1996). En razón

de su liposolubilidad, las fluoroquinolonas llegan a las cámaras anterior y posterior del ojo, atraviesan la placenta y la barrera hematoencefálica (Aramayona y col., 1994; Brown, S.A., 1996; Lecoeur Bitchatchi y Kolf Clauw, 1998). Se han encontrado concentraciones efectivas de algunas fluoroquinolonas en líquido cefalorraquídeo, aunque la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, al igual que sucede con la placenta, es distinta para cada quinolona, dependiendo de la liposolubilidad de las mismas (Aramayona y col., 1994; Ichikawa y col., 1994).

Las concentraciones en saliva y secreciones bronquiales y nasales también son elevadas, aunque inferiores a las plasmáticas (Friis, C., 1993; Brown, S.A., 1996).

Las fluoroquinolonas también se concentran en las células fagocitarias (macrófagos alveolares, neutrófilos) y por ello son eficaces frente a microorganismos intracelulares (Brown, S.A., 1996; Lecoeur Bitchatchi y Kolf Clauw, 1998). Es importante tener en cuenta la capacidad de estos antibacterianos para penetrar en las células fagocíticas, concentrándose en los macrófagos alveolares hasta 7-8 veces y en los leucocitos polimorfonucleares entre 7-14 veces de los valores correspondientes al fluido extracelular.

El paso a leche varía dependiendo de la fluoroquinolona, en función de sus propiedades físico-químicas.

I.3.5.1.3.- Eliminación: metabolismo y excreción

Las quinolonas se eliminan principalmente por metabolismo hepático y excreción renal, ya sea por filtración glomerular o secreción tubular activa. Aunque la excreción de la mayoría de las fluoroquinolonas tiene lugar, principalmente, por vía renal, también hay que considerar la eliminación por vía hepática y gastrointestinal, variando de una quinolona a otra. La eliminación es casi exclusivamente renal para la ofloxacin, renal y no renal para la norfloxacin, ciprofloxacina, enoxacin, fleroxacin, difloxacina, lomefloxacina, temafloxacina, y predominantemente no renal para la pefloxacina o la grepafloxacina (Bryskier y Chantot, 1995; Turnidge, J., 1999).

En función de las características físico-químicas de cada quinolona, variará la reabsorción tubular. Los compuestos menos polares, como la pefloxacina o la difloxacina, serán ampliamente reabsorbidos y exhibirán una semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$) prolongada. Los compuestos más polares, como la norfloxacin, ciprofloxacina y enoxacin, presentarán valores más altos de aclaramiento renal (Cl), dando lugar a un acortamiento de la semivida de eliminación (Fitton, A., 1992). Los derivados N_4 metilados, que son más lipofílicos, son los más susceptibles de ser reabsorbidos (Sörgel y Kinzig, 1993).

La extensión y tipo de metabolismo dependen de cada compuesto en particular. La ofloxacin es muy poco metabolizada y es excretada principalmente en orina como compuesto original mientras que la pefloxacina es ampliamente

metabolizada a norfloxacin (Vancutsem y col., 1990; Brown, S.A., 1996), aunque el metabolismo contribuye poco al aclaramiento de las fluoroquinolonas. La mayoría de los metabolitos primarios de las fluoroquinolonas son activos, sin embargo, estos metabolitos tienen en general una semivida de eliminación más corta que el compuesto original. Las reacciones de biotransformación (oxidación, hidroxilación, N-desalquilación y glucoronconjugación) afectan sobre todo al grupo piperazínico y sus sustituyentes (Neuman, M., 1988).

El grado de excreción biliar es variable según el compuesto aunque generalmente es bajo (Fitton, A., 1992). La excreción biliar de algunas fluoroquinolonas, como la pefloxacin, la trovafloxacin o la grepafloxacin puede ser considerablemente alta, por lo que son más adecuadas para el tratamiento de infecciones del tracto biliar (Brown, S.A., 1996; Teng y col., 1996; Sasabe y col., 1999). Algunas fluoroquinolonas pueden ser eliminadas vía transintestinal gracias a la recirculación enterohepática debido a la acción de las β -glucuronidasas en el tracto intestinal, pudiendo liberar el compuesto primario o metabolitos microbiológicamente activos.

Se ha descrito la posibilidad de reabsorción tubular pH-dependiente para las quinolonas, siendo en general los derivados N₄-metilados, al ser los más lipofílicos, los más susceptibles de ser reabsorbidos.

La semivida de eliminación de las fluoroquinolonas es dependiente de cada molécula, de la especie considerada y en algunas ocasiones, de la dosis administrada, pero en general estas son prolongadas permitiendo su dosificación cada 12 o 24 horas según los casos.

De las fluoroquinolonas utilizadas en medicina veterinaria, que fueron ensayadas en especies no rumiantes, la ciprofloxacina presenta una semivida de eliminación relativamente prolongada tras la administración intravenosa, con valores que oscilan desde 1,6 horas en conejos, hasta 7,70 horas en pollos; danofloxacina, difloxacina, moxifloxacina y norfloxacina, presentan valores similares a la anterior, variando también según la vía de administración. La danofloxacina alcanza valores superiores a la ciprofloxacina, entre 4,88 horas en conejos y 6,7 horas en cerdos y pollos, cuando se administra por vía intravenosa y entre 6,62 horas y 8,20 horas cuando se administra por otras vías parenterales (intramuscular o subcutánea) o vía oral.

El aclaramiento plasmático no supera en ninguna de las especies el litro por kilogramo y hora a excepción de cerdos, ratas, ratones y conejos tras la administración de ciprofloxacina y moxifloxacina.

El tiempo medio de residencia (MRT) se establece en un intervalo de 2,44 horas en los conejos y 15,89 en los pollos, observándose diferencias significativas según especie y vía de administración.

Tabla 8.- Semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$), aclaramiento plasmático (Cl) y tiempo medio de residencia (MRT) en no rumiantes (5 mg/ kg).

QUINOLONA	VÍA	ESPECIE	$t_{1/2\lambda}$ (h)	Cl(L/kg•h)	MRT(h)	AUTOR
ciprofloxacina	IV	pollos	2,3-7,7	0,5-0,93	4,4-15,9	Anadón y col., 2001 ⁴ García-Ovando y col., 1997 García-Ovando y col., 1999
		monos	4,3	0,28	x	Cox y col., 2004
		perros	2,16-4,3	0,2-0,47	4,43-10,67	Cester y Toutain, 1997 Abadía y col., 1994 Abadía y col., 1994 ⁵ Abadía y col., 1994 ²
		cerdos	2,6	1,04	x	Cox y col., 2004
		ratas	2,2	1,60	x	Cox y col., 2004
		conejos	1,6	1,63	x	Cox y col., 2004
	VO	pollos	11	0,46	12,40	Anadón y col., 2001 ⁴
		perros	x	x	6,09	Bidgood y Papich., 2005
danofloxacina	IV	pollos	6,73	1,41	7,25	Knoll y col., 1999
		cerdos	5,49-6,7	0,44-0,59	6,52	Cox, S.K., 2007 Richez y col., 1997b ²
		conejos	4,88	0,76	4,14	Fernández-Varón y col., 2007 ³
		caballos	6,3	0,34	x	Cox, S.K., 2007
	IM	cerdos	6,99	0,52	10,35	Richez y col., 1997b ¹
		conejos	6,7	x	5,01	Fernández-Varón y col., 2007 ³
	VO	pollos	6,62	x	8,69	Knoll y col., 1999
SC	conejos	8,2	x	4,73	Fernández-Varón y col., 2007 ³	
difloxacina	IV	caballos	x	0,28	x	Cox, S.K., 2007
		conejos	x	0,41	x	Cox, S.K., 2007
	VO	perros	6,95-8,52	x	11,04	Heinen, 2002 Frazier y col., 2000
moxifloxacina	IV	patos	2,49	0,32	3,45	Goudah y col., 2010
		cerdos	5,7	0,65	x	Cox, S.K., 2007
		monos	6,9	0,52-0,69	x	Cox, S.K., 2007
		perros	8,6	0,22	x	Cox, S.K., 2007
		conejos	1,84	0,80	2,44	Fernández-Varón y col., 2005
		ratas	1,2	2,08-2,55	x	Cox, S.K., 2007
		ratones	0,9	4,21	x	Cox, S.K., 2007
	IM	patos	3,14	x	4,92	Goudah y col., 2010
		conejos	2,09	x	3,20	Fernández-Varón y col., 2005
	VO	conejos	2,15	x	3,29	Fernández-Varón y col., 2005
patos		2,63	x	4,42	Goudah y col., 2010	
orbifloxacina	VO	perros	7,14	x	11,17	Heinen, 2002 ²

¹ 1,25 mg/kg; ² 2,5 mg/kg; ³ 6 mg/kg; ⁴ 8 mg/kg; ⁵ 10 mg/kg

I.3.5.2.- Farmacocinética de las fluoroquinolonas en especies rumiantes

I.3.5.2.1.- Biodisponibilidad

Biodisponibilidad oral y parenteral

En las especies rumiantes la absorción oral es baja, si bien, este hecho parece que se debe tanto al contenido presente en estas estructuras como a la quelación con cationes divalentes o a la adsorción de las fluoroquinolonas, y no a la destrucción del antimicrobiano en los proventrículos (González y col., 1997). En estudios realizados en ovejas tras la administración de norfloxacin se obtuvo una concentración máxima de 1,53 µg/ml en un tiempo máximo de 10,20 horas. La administración oral de norfloxacin produjo una acumulación del fármaco en el rumen y una escasa biodisponibilidad, de tan sólo 4,04 % mientras que en corderos prerrumiantes la biodisponibilidad oral es de 73,51 %, valor similar a la biodisponibilidad de otras quinolonas por vías parenterales.

El tiempo en el que se alcanzó la concentración máxima presentó una alta variabilidad interindividual (González y col., 1997). Tras la administración oral de 5 mg/kg de danofloxacin a terneros rumiantes, las concentraciones plasmáticas se hallaron en el límite de detección, o incluso debajo de éste, en todos los tiempos muestreados (Mann y Frame, 1992). La administración oral de 10 mg/kg de peso corporal de norfloxacin alcanza la concentración máxima a las 10,20 horas postadministración en ovejas mientras que la administración intramuscular alcanzó dicha concentración entre las 0,70 y 1,95 horas según quinolonas y especie.

En cuanto a las vías parenterales, la concentración máxima osciló entre 0,22 µg/ml en vacas tras la administración subcutánea de danofloxacin y 4,95 µg/ml en cabritos tras la administración intramuscular de difloxacin. El tiempo en que tarda en alcanzarse dicha concentración es muy variable, desde las 0,53 horas de la ciprofloxacina intramuscular en ovejas hasta las 5,33 horas de difloxacin subcutánea en la misma especie.

La biodisponibilidad sin embargo, no presenta variaciones, siendo muy elevada en todas las especies.

Tabla 9.- Concentración máxima (C_{max}), tiempo máximo (T_{max}) y biodisponibilidad (F) parenteral en rumiantes (5 mg/kg).

QUINOLONA	VÍA	ESPECIE	C_{max} (μ g/ml)	T_{max} (h)	F(%)	AUTOR
danofloxacin	IM	camellos	0,49	0,70	114,50	Aliabadi y col., 2003 ¹
		vacas	x	x	91-125	Shem-Tov y col., 1997b, 1998 Apley y Upson, 1993 Giles y col., 1991
		terneros	x	x	94	Gips y Soback, 1996
	SC	vacas	0,23-0,24	1,25	91-125	McKellar y col., 1999 ¹
ciprofloxacina	IM	cabras	1,92	x	95,9	el-Banna y Abo el-Sooud, 1998
		ovejas	x	0,53	49	Muñoz y col., 1996 ²
difloxacina	IM	cabras	4,1	x	95,4	Atef y col., 2002
		cabritos	4,95	1,85	97,5	Goudah y col., 2008
		ovejas	1,89	2,42	99,92	Marin y col., 2007
		corderos	4,25	1,31	97,1	Goudah y col., 2008
		dromedarios	2,84	1,42	93,51	Abo-El-Sooud y Goudah., 2009
	SC	ovejas	1,39	5,33	82,35	Marin y col., 2007
moxifloxacina	IM	ovejas	1,66	2,25	96,12	Cárceles y col., 2009
		camellos	2,16	1,04	82,10	Abd-el-Aty y col., 2007
	SC	ovejas	0,90	3,25	102,20	Cárceles y col., 2009
norfloxacina	IM	ovejas	3,29	1,95	x	González y col., 2001 ³

¹ 1,25 mg/kg; ² 7,5 mg/kg; ³ 10 mg/kg

I.3.5.2.2.- Distribución

El paso de danofloxacin desde la sangre a la leche, en ovejas y vacas, es rápido y amplio, tanto tras la administración intravenosa, como intramuscular, consiguiéndose concentraciones en leche que exceden a las concentraciones séricas ya desde los 60-90 minutos de la administración intravenosa y 90-120 minutos después de la administración intramuscular (para ovejas y vacas, respectivamente) (Shem-Tov y col., 1997b-1998).

El volumen de distribución de las fluoroquinolonas en rumiantes suele ser amplio, entre 1,05 L/kg de la norfloxacina en ovejas y 3,43-3,98 L/kg en cabra y búfalos de la ciprofloxacina y danofloxacin respectivamente. En corderos y cabritos el volumen de distribución de difloxacina es de 0,48 L/kg tras la administración intravenosa.

Tabla 10.- Volumen de distribución (Vd) en rumiantes (5 mg/kg).

QUINOLONA	VÍA	ESPECIE	Vd(L/kg)	AUTOR
ciprofloxacina	IV	cabras	2,14-3,4	el-Banna y Abo el-Sooud, 1998; García-Ovando y col., 2000 ²
		ovejas	1,9	Cox y col., 2004
		vacas	2,5	Cox y col., 2004
danofloxacina	IV	cabras	1,4-3	Cox, S.K., 2007
		ovejas	2,8	Cox, S.K., 2007
		búfalos	3,98	Sappal y col., 2009 ¹
		vacas	2,04	Shem-Tov y col., 1998
		camellos	2,53	Aliabadi y col., 2003 ¹
difloxacina	IV	cabras	0,48-1,1	Atef y col., 2002; Goudah y col., 2008
		ovejas	0,49-1,68	Marin y col., 2007; Goudah y col., 2008
		dromedarios	1,02	Abo-El-Sooud y Goudah., 2009
moxifloxacina	IV	ovejas	1,05-2,03	González y col., 1997-20012; Cárceles y col., 2009
		camellos	1,78	Abd-el-Aty y col., 2007

¹ 1,25 mg/kg; ² 10 mg/kg

I.3.5.2.3.- Eliminación: metabolismo y excreción

El aclaramiento plasmático, tras la administración intravenosa, fue similar en todas las especies alcanzando los valores más altos la administración de ciprofloxacina.

La semivida de eliminación de las fluoroquinolonas en rumiantes varía dependiendo de la quinolona, la vía de administración y la especie de que se trate. La danofloxacina, difloxacina y moxifloxacina tienen una semivida de eliminación tras la administración intramuscular entre 2,07 horas y 5,71 horas valores extremos encontrados en los camélidos.

La administración intravenosa muestra una semivida de eliminación con un intervalo más amplio, según la quinolonas y la especie tratada, con un mínimo de 1,2 horas en ovejas tras la administración de ciprofloxacina y 11,4 horas en ovejas tras la administración de danofloxacina. Habría que destacar la semivida de eliminación en cabras tras la administración intravenosa de norfloxacina que no supera las 0,25 horas.

El tiempo medio de residencia varía en función de la quinolona administrada observando que la ciprofloxacina y la danofloxacina son las que, en general, presentan un valor menor.

Tabla 11.- Semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$), aclaramiento plasmático (Cl) y tiempo medio de residencia (MRT) en rumiantes (5 mg/kg).

QUINOLONA	VÍA	ESPECIE	$t_{1/2\lambda}$ (h)	Cl(L/kg•h)	MRT(h)	AUTOR
ciprofloxacina	IV	cabras	2,72-2,78	0,86-1,17	3,33	el-Banna y Abo el-Sooud, 1998 García-Ovando y col., 2000 ²
		ovejas	1,2	1,08	x	Cox y col., 2004
		vacas	2,4	0,73	x	Cox y col., 2004
		terneros	3,54	x	x	Raina y col., 2000
	IM	ovejas	3,06	x	x	Muñoz y col., 1996
difloxacina	IV	cabras	6,3	0,13		Atef y col., 2002
		cabritos	3,57	0,12	5,12	Goudah y col., 2008
		ovejas	11,43	0,21	8,07	Marin y col., 2007
		corderos	2,63	0,11	3,66	Goudah y col., 2008
		dromedarios	2,97	0,24	4,11	Abo-El-Sooud y Goudah., 2009
	IM	cabritos	6,85	x	10,45	Goudah y col., 2008
		ovejas	13,89	x	15,83	Marin y col., 2007
		corderos	6,14	x	9,24	Goudah y col., 2008
		dromedarios	3,46	x	5,61	Abo-El-Sooud y Goudah., 2009
	SC	ovejas	12,02	x	12,62	Marin y col., 2007
danofloxacina	IV	cabras	4,7	0,57	x	Cox, S.K., 2007
		ovejas	3,4	0,63	x	Cox, S.K., 2007
		búfalos	4,24	0,71	8,64	Sappal y col., 2009 ¹
		camellos	5,37	0,44	5,82	Aliabadi y col., 2003 ¹
	IM	camellos	5,71	x	x	Aliabadi y col., 2003 ¹
moxifloxacina	IV	ovejas	5,19	0,39	5,17	Cárceles y col., 2009
		camellos	1,87	0,34	5,77	Abd-el-Aty y col., 2007
	IM	ovejas	5,05	x	7,05	Cárceles y col., 2009
		camellos	2,07	x	7,29	Abd-el-Aty y col., 2007
	SC	ovejas	7,42	x	13,68	Cárceles y col., 2009
norfloxacina	IV	cabras	0,25	x	x	Jha y col., 1996
		ovejas	6,2	x	13,04	Soback y col., 1994 González y col., 2001 ²
	IM	ovejas	x	x	12,38	González y col., 2001 ²
	VO	ovejas	x	x	24,43	González y col., 2001 ³

¹ 1,25 mg/kg; ² 10 mg/kg

I.3.5.3.- Farmacocinética de la marbofloxacina

I.3.5.3.1.- Biodisponibilidad

Biodisponibilidad oral

En las especies estudiadas, la biodisponibilidad oral de la marbofloxacina es elevada en todas ellas a excepción de los équidos donde no se superan valores de 62 %. En aves el tiempo que tarda en alcanzarse dicha concentración es superior en el caso de guacamayos y pavos en comparación con los pollos. En el resto de las

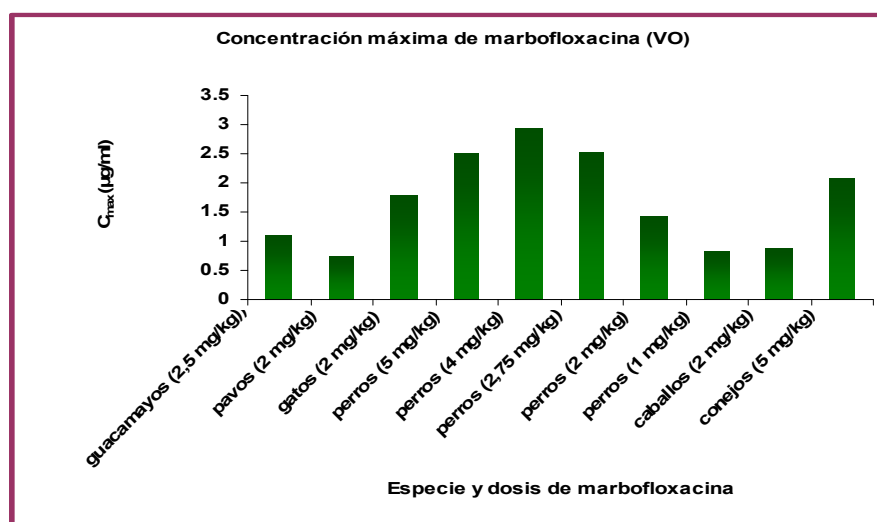
especies no se encontraron diferencias con concentraciones entre 2 y 5 mg/kg de peso corporal administradas.

Las concentraciones máximas son más elevadas en perros, gatos y conejos, mientras que el tiempo que tarda en ser alcanzada la concentración máxima es mayor en aves y muy baja en équidos.

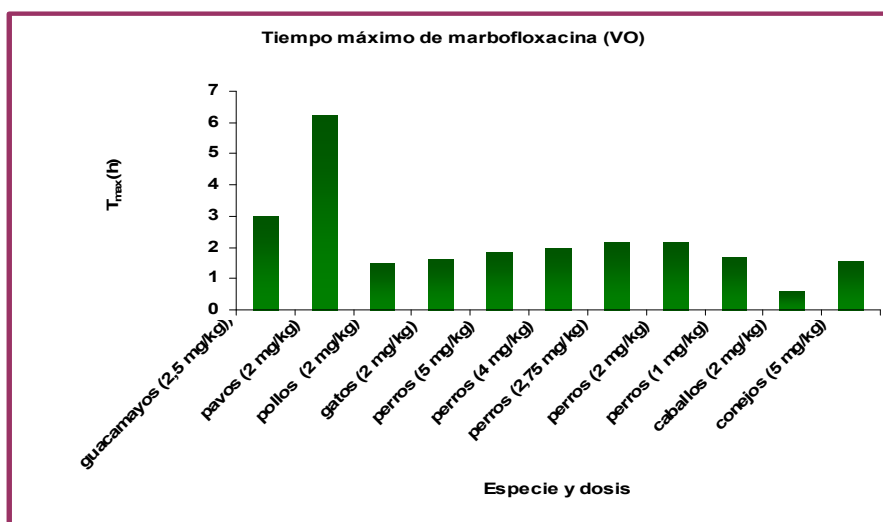
Tabla 12.- Concentración máxima (C_{max}), tiempo máximo (T_{max}) y biodisponibilidad (F) oral de la marbofloxacina (dosis 2 mg/kg).

ESPECIE	C_{max} (μ g/ml)	T_{max} (h)	F(%)	AUTOR
guacamayos	1,09	3	83	Carpenter y col., 2006 ²
pavos	0,67-0,80	6,0-6,5	70,67-84,37	Haritova y col., 2006
pollos	x	1,48	68,37	Tafur Garzón, M.A., 2000
gatos	1,78	1,61	79	Albarellos y col., 2005
perros	0,83-3,63	1,7-2,5	104-107	Bidgood y Papich, 2005; Cester y Toutain 1997 ⁵ Schneider y col., 1996 ⁴ ; Frazier y col., 2000 ³ Heinen, 2002; Schneider y col., 1996 Schneider y col., 1996 ¹
cerdos	x	x	82,4	Marbofloxacin Reference Book, 1999
caballos	0,89	0,58	58,8-62,4	Bousquet-Melou y col., 2002 Carretero y col., 2002; Peyrou y col., 2006
conejos	1,68-2,47	1,23-1,60	84,5	Carpenter y col., 2009; Schneider y col., 2000 ⁵

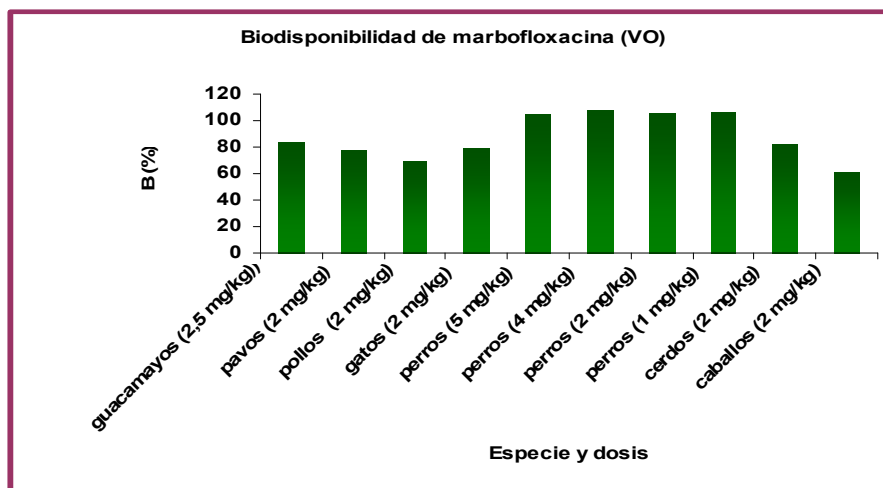
¹ 1 mg/kg; ² 2,5 mg/kg; ³ 2,75 mg/kg; ⁴ 4 mg/kg; ; ⁵ 5 mg/kg



Gráfica 3.- Concentración máxima (C_{max}) oral de la marbofloxacina.



Gráfica 4.- Tiempo máximo (T_{max}) oral de la marbofloxacina.



Gráfica 5.- Biodisponibilidad (F) oral de la marbofloxacina.

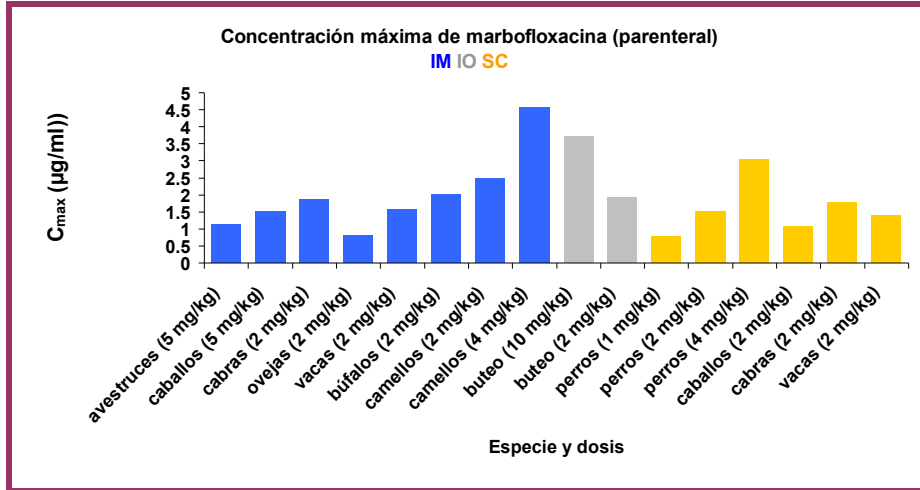
Biodisponibilidad parenteral

La biodisponibilidad intramuscular y subcutánea de la marbofloxacina es, aproximadamente, del 100 % en todas las especies estudiadas, aunque en équidos y camellos este valor es significativamente inferior tras la administración intramuscular. Las concentraciones máximas encontradas en camellos, tras la administración intramuscular llaman la atención por su elevado valor; en todas las especies dicha concentración se alcanza entre 1 y 2 horas postadministración, a excepción de los buecos.

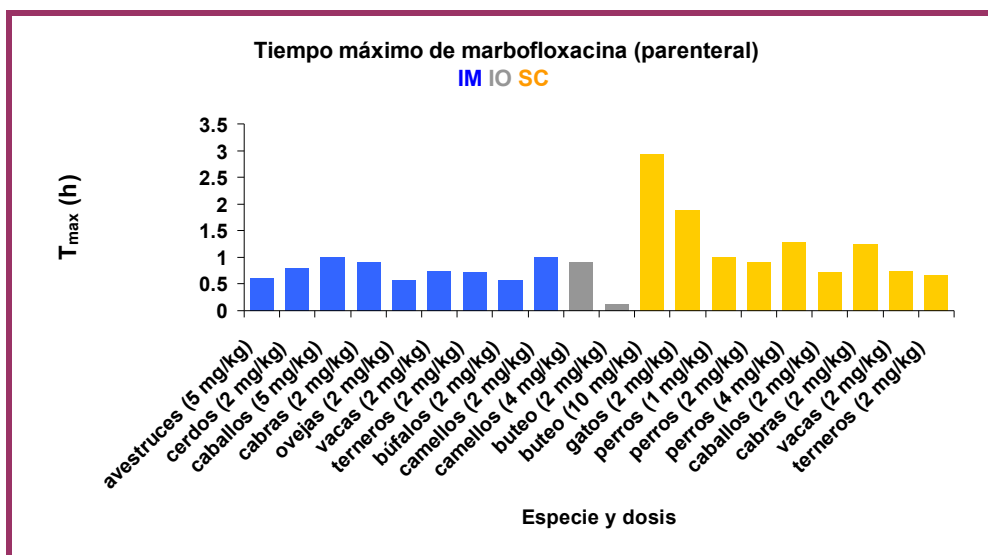
Tabla 13.- Concentración máxima (C_{max}), tiempo máximo (T_{max}) y biodisponibilidad (F) parenteral de la marbofloxacina (2 mg/kg).

VÍA	ESPECIE	C_{max} (μ g/ml)	T_{max} (h)	F(%)	AUTOR
IM	avestruces	1,13	0,61	95,03	de Lucas y col., 2005b ³
	cerdos	x	0,8	115	Marbofloxacin Reference Book, 1999
	caballos	1,52	1	77,97	Carretero y col., 2002
	cabras	1,87	0,9	100,74	Waxman y col., 2001
	ovejas	x	0,75	100	Marbofloxacin Reference Book, 1999
	vacas	1,4-1,82	0,51-1	103-104,17	Ismail y col., 2007; Schneider y col., 2004 Aliabadi y Lees, 2002
	terneros	x	0,71	102,40	Thomas y col., 1994a Marbofloxacin Reference Book, 1999
	búfalos	2	0,57	86,79	Goudah y col., 2007
	camellos	2,50-4,55	0,9-1	71,95	Laraje y col., 2006; Laraje y col., 2006 ²
SC	gatos	x	1,88	97,60	Marbofloxacin Reference Book, 1999
	perros	0,78-3,04	0,9-1,3	97,2-103	Schneider y col., 1996; Schneider y col., 1996 ¹
	caballos	1,07	0,72	97,60	Bousquet-Melou y col., 2002
	cabras	1,77	1,25	x	Dova y col., 2007
	vacas	1,50	0,73	104,17	Thomas y col., 1994b Marbofloxacin Reference Book, 1999
	terneros	x	0,66	91,81	Thomas y col., 1994a; Marbofloxacin Reference Book, 1999
IO	buteos	1,92-3,70	0,11-2,92	92,15	García-Montijano y col., 2006 García-Montijano y col., 2006 ⁴

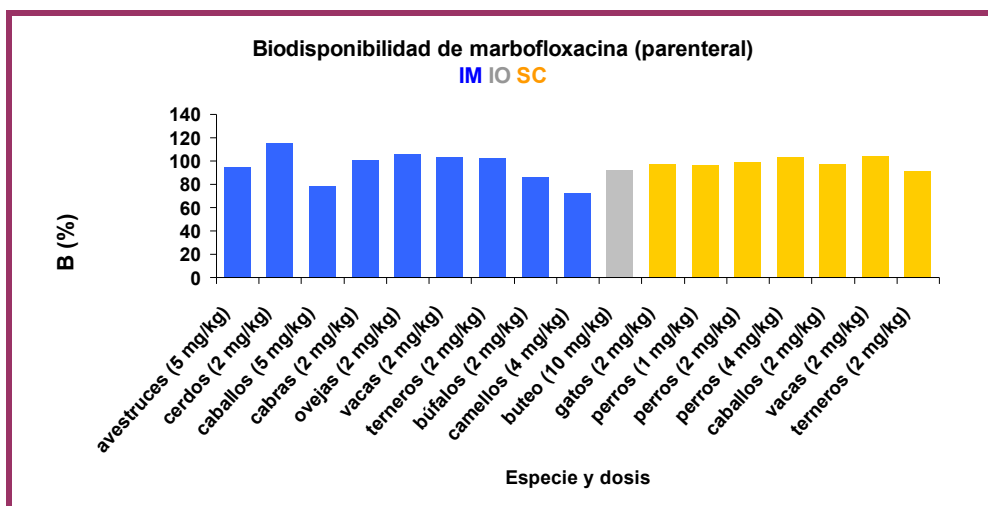
¹ 1 mg/kg; ² 4 mg/kg; ³ 5 mg/g; ⁴ 10 mg/kg



Gráfica 6.- Concentración máxima (C_{max}) parenteral de la marbofloxacina.



Gráfica 7.- Tiempo máximo (T_{max}) parenteral de la marbofloxacin.



Gráfica 8.- Biodisponibilidad (F) parenteral de la marbofloxacin.

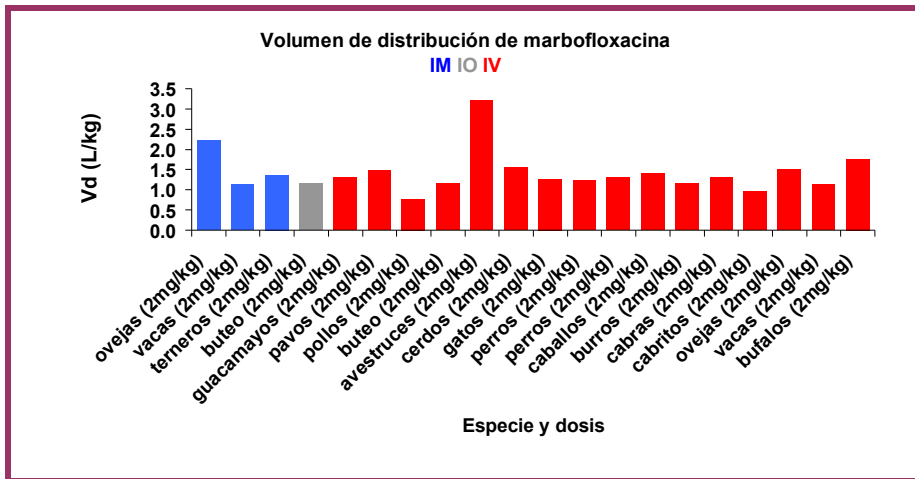
1.3.5.3.2.- Distribución

El volumen de distribución de la marbofloxacin es similar en la mayoría de las especies, observándose valores que superan 1 L/kg. A pesar de que algunas aves siguen la misma pauta, llama la atención el bajo volumen de distribución que presentan los pollos en contraste con el valor tan elevado que presentan las ratites.

Tabla 14.- Volumen de distribución (Vd) de la marbofloxacin (2 mg/kg).

VÍA	ESPECIE	Vd(L/kg)	AUTOR
IM	vacas	1,03-1,24	Schneider y col., 2004; Aliabadi y Lees, 2002
	terneros	1,36	Thomas y col., 1994a
IV	guacamayos	1,3	Carpenter y col., 2006 ¹
	pavos	1,41-1,54	Haritova y col., 2006
	pollos	0,77	Tafur Garzón, M.A., 2000
	buteos	1,16	García-Montijano y col., 2001
	avestruces	3,22	de Lucas y col., 2005b ²
	cerdos	1,3-1,8	Cox, S.K., 2007; Petracca y col., 1993ab
	gatos	1,01-1,5	Albarellos y col., 2005; Cox, S.K., 2007
	perros	1,01-1,53	Cester y Toutain, 1997 ² ; Albarellos y col., 2005 Bidgood y Papich., 2005; Schneider y col., 1996
	caballos	1,13-1,60	Peyrou y col., 2006; Bousquet-Melou y col., 2002 Carretero y col., 2002
	burros	1,15	González y col., 2007
	cabras	1,31	Waxman y col., 2004
	cabritos	0,92-1	Waxman y col., 2004
	ovejas	1,5	Cox, S.K., 2007
	vacas	1,09-1,2	Ismail y col., 2007; Cox, S.K., 2007; Aliabadi y Lees, 2002
	búfalos	1,77	Goudah y col., 2007
IO	buteos	1,16	García-Montijano y col., 2006 ³

¹ 2,5 mg/kg; ² 5 mg/kg; ³ 10 mg/kg



Gráfica 9.- Volumen de distribución (Vd) de la marbofloxacin.

En vacas, ovejas y cerdos ha sido estudiado el paso de la marbofloxacin desde el plasma a la leche. Existe acumulación del fármaco en la glándula mamaria con valores de AUC_{leche}/AUC_{plasma} que se encuentran entre 1,33 y 2,64 (Shem-Tov y col., 1997a, Petracca y col., 1993ab). Esta acumulación en leche se debe a las propiedades físico-químicas del compuesto como son su alta liposolubilidad y el

punto isoelectrico, que determinan, junto con el pH de la leche, el grado de disociación de la molécula.

La unión de la marbofloxacin a proteínas plasmáticas registrada en vacas es de alrededor del 25-40 %, del 15 al 30 % en perros (Bregante y col., 2000) y 18,4 % en cerdos (Petraça y col., 1993ab).

I.3.5.3.3.- Eliminación: metabolismo y excreción

La marbofloxacin se elimina, en su mayoría sin metabolizar, aproximadamente dos tercios por vía renal y un tercio por vía biliar (Lecoeur Bitchatchi y Kolf Clauw, 1998; Marbofloxacin Reference Book, 1999).

La biotransformación de la marbofloxacin da lugar a la formación de 2 metabolitos: N-óxido marbofloxacin y desmetil marbofloxacin (Albarellos y col., 2005), aunque en cantidades limitadas (menos del 5 % de la dosis administrada) (Marbofloxacin Reference Book, 1999). Thomas y col., (1994ab) estudiaron la eliminación de la marbofloxacin en vacas y en terneros prerrumiantes, encontrando que en las primeras, el compuesto se elimina en un 45 % por vía biliar y en un 54 % en orina, mientras que, en los terneros, la eliminación por dichas vías se produce en un 10 % y un 75 % respectivamente.

Los valores de aclaramiento plasmático, semivida de eliminación y tiempo medio de residencia son muy variables, tanto en función de la especie como de la vía de administración y de la dosis administrada.

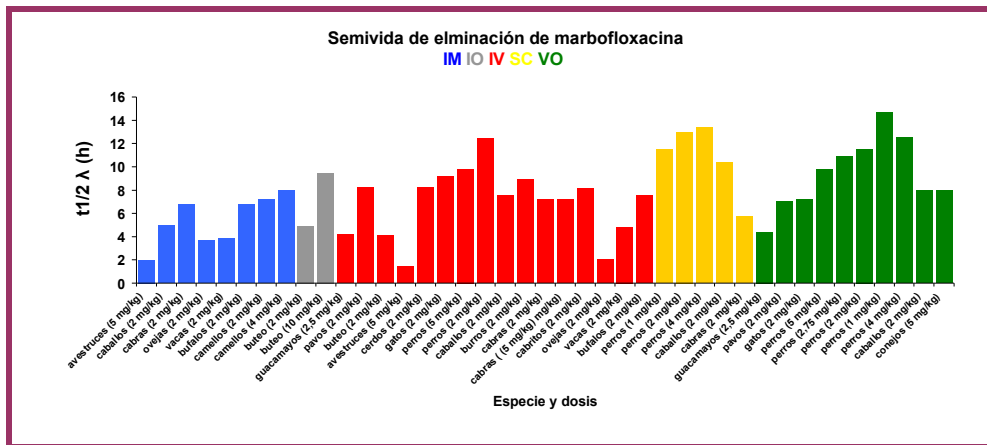
Tabla 15.- Semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$), aclaramiento plasmático (Cl) y tiempo medio de residencia (MRT) de la marbofloxacin (2 mg/kg).

VÍA	ESPECIE	$t_{1/2\lambda}$ (h)	Cl(L/kg•h)	MRT(h)	AUTOR
IV	guacamayos	4,2	0,27	4,8	Carpenter y col., 2006 ²
	pavos	7,37-9,01	0,12-0,16	9,04-11,29	Haritova y col., 2006
	buteos	4,11	0,20	5,79	García-Montijano y col., 2001
	avestruces	1,47	2,19	1,46	de Lucas y col., 2005b ⁵
	cerdos	8,2	0,17	x	Cox, S.K., 2007
	gatos	7,98-10,3	0,09-0,13	11,19	Albarellos y col., 2005; Cox, S.K., 2007
	perros	9,83-12,4	0,09-0,1	13,2	Schneider y col., 1996; Cester y Toutain, 1997 ⁵
	caballos	4,81-7,56	0,25-3,20	5,95-6,53	Peyrou y col., 2006; Carretero y col., 2002; Bousquet-Melou y col., 2002;
	burros	8,88	0,10	10,62	González y col., 2007
	cabras	7,18	0,23	5,06	Waxman y col., 2004
	cabritos	6,44-9,66	0,08-0,18	5,76-11,86	Waxman y col., 2004
	ovejas	2,0	0,552	x	Cox, S.K., 2007
vacas	4,23-5,7	0,18-0,312	5,33-6,1	Cox, S.K., 2007; Ismail y col., 2007; Aliabadi y Lees, 2002	
búfalos	7,52	0,18	9,96	Goudah y col., 2007	

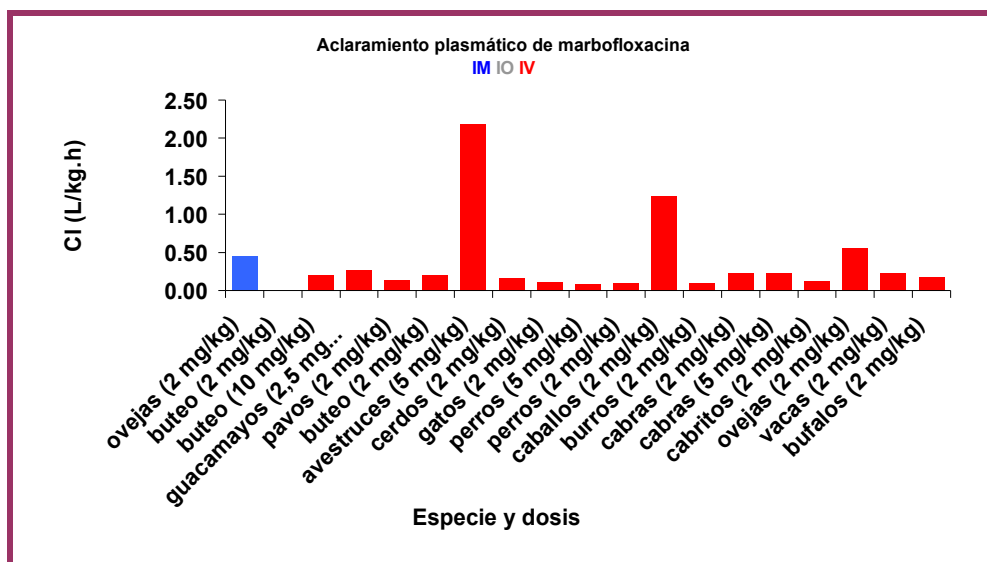
(Continúa en la página siguiente)

VÍA	ESPECIE	$t_{1/2\lambda}$ (h)	CI(L/kg·h)	MRT(h)	AUTOR
IM	avestruces	1,96	x	2,11	de Lucas y col., 2005b ⁵
	caballos	4,99	x	6,56	Carretero y col., 2002
	cabras	6,77	x	4,62	Waxman y col., 2001
	vacas	2.53-4,7	x	7,4	Ismail y col., 2007; Schneider y col., 2004 Aliabadi y Lees, 2002
	búfalos	6,79	x	7,95	Goudah y col., 2007
	camellos	7,16 7.98	x x	8,9 7,78	Laraje y col., 2006 Laraje y col., 2006 ⁴
SC	perros	11,5	x	13,4	Schneider y col., 1996 ¹
		13	x	14,2	Schneider y col., 1996
		13,4	x	14,5	Schneider y col., 1996 ⁴
	caballos	10,41	x	8,66	Bousquet-Melou y col., 2002
	cabras	5,74	x	4,80	Dova y col., 2007
VO	guacamayos	4,4	x	6,5	Carpenter y col., 2006 ²
	pavos	6.23-7,73	x	11-89-14,01	Haritova y col., 2006
	gatos	6,60	x	x	Albarellos y col., 2005
	perros	9,07-14,7	x	13,62-17.8	Schneider y col., 19964 Bidgood y Papich, 2005 ⁵ Heinen, 2002; Schneider y col., 1996 ¹ Schneider y col., 1996; Frazier y col., 2000 ³
	caballos	7.08-8,78	x	8,9-79.29	Bousquet-Melou y col., 2002
	conejos	8	x	9	Carpenter y col., 2009 ⁵
IO	buteos	4,91	0,0033	5,38	García-Montijano y col., 2006
		9,48	0,2004	10,05	García-Montijano y col., 2006 ⁶

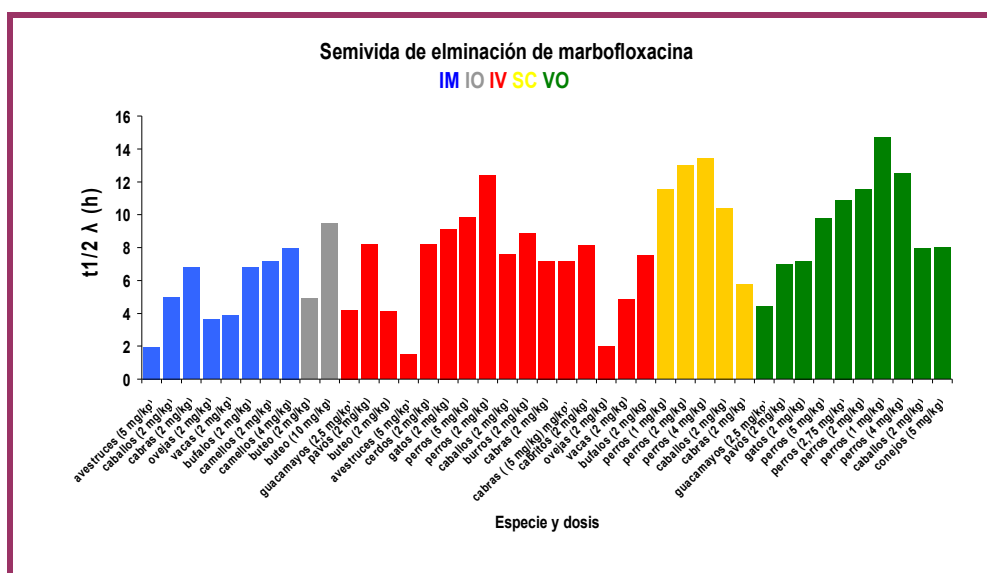
¹ 1 mg/kg; ² 2,5 mg/kg; ³ 2,75 mg/kg; ⁴ 4 mg/kg; ⁵ 5 mg/kg; ⁶ 10 mg/kg



Gráfica 10.- Semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$) de la marbofloxacina.



Gráfica 11.- Aclaramiento plasmático (Cl) de la marbofloxacina.



Gráfica 12.- Tiempo medio de residencia (MRT) de la marbofloxacina.

I.3.5.4.- Farmacocinética de la enrofloxacin

La enrofloxacin es quizás de las fluoroquinolonas más estudiadas en medicina veterinaria. Ha sido administrada a través de vía oral y vías parenterales en dosis de 2 hasta 15 mg/kg de peso corporal.

I.3.5.4.1.- Biodisponibilidad

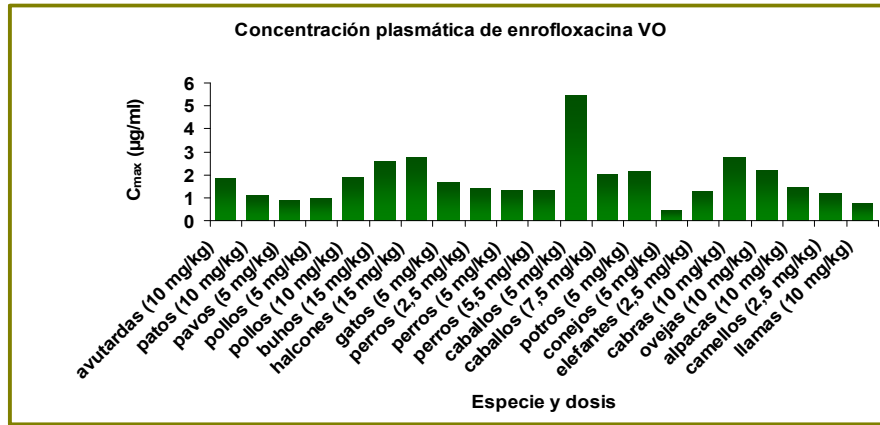
Biodisponibilidad oral

La enrofloxacin presenta una biodisponibilidad (F) oral relativamente alta en casi todas las especies estudiadas, registrándose valores de 50-75 % en todas, aunque este valor es bastante inferior en los rumiantes, no superando el 10 % (Otero y col., 2001b); en terneros prerrumiantes, al igual que ocurre con las especies que poseen estómago monocavitario, es mayor del 80%. A pesar de ello, para los prerrumiantes se recomienda la vía parenteral ya que los minerales presentes en los lácteos pueden producir la quelación del antimicrobiano (Vancutsem y col., 1990; Sumano López, H., 1993). En équidos, donde otras fluoroquinolonas no han demostrado buena absorción por vía oral la enrofloxacin tiene una biodisponibilidad de aproximadamente el 60 %. No se han encontrado diferencias significativas en la biodisponibilidad oral de la enrofloxacin en cerdos en ayunas con respecto a los que habían ingerido alimento (Nielsen y Gyrd Hansen, 1997). El tiempo que tarda en alcanzarse la máxima concentración (T_{max}) es muy variable en todas las especies. Esta variabilidad se aprecia incluso dentro de las aves y de los herbívoros.

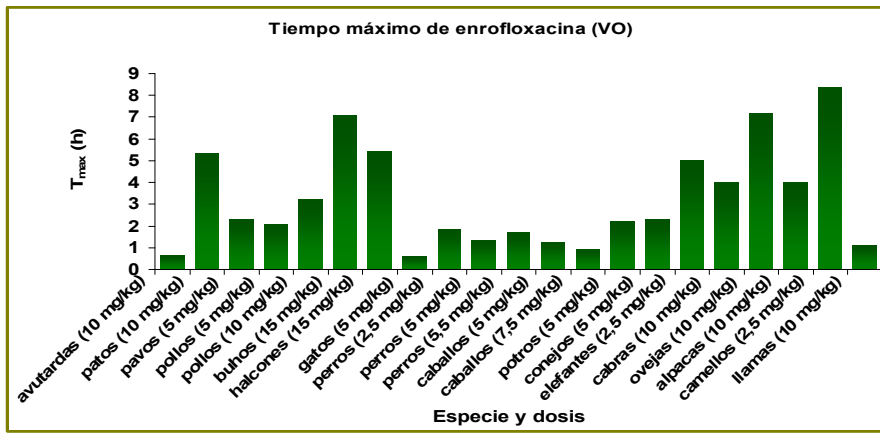
Tabla 16.- Concentración máxima (C_{max}), tiempo máximo (T_{max}) y biodisponibilidad (F) oral de la enrofloxacin (5 mg/kg).

ESPECIE	C _{max} (µg/ml)	T _{max} (h)	F(%)	AUTOR
avutardas	1,84	0,66	62,70	Bailey y col., 1998 ⁴
patos	0,94-1,23	1,39-7,69	69,2-79,61	Dimitrova y col., 2007; Intorre y col., 1997 ⁴
pavos	0,87	2,29	69,85	Haritova y col., 2004
pollos	0,99-2,45	1,47-9	59,58-89,2	Haritova y col., 2004; Bugyei y col., 1999 da Silva y col., 2006; Abd-el-Aziz y col., 1997 ⁴ Anadón y col., 1995 ² ; Solimán, G.A., 2000; Knoll y col., 1999;
búhos	2,6	7,1	x	Harrenstien y col., 2000 ⁵
halcones	2,8	5,4	76,00	Harrenstien y col., 2000 ⁵
gatos	1,66	0,6	x	Richez y col., 1997a
perros	1,12-1,75	0,9-1,86	63,22-82,6	Bidgood y Papich, 2005; Frazier y col., 2000 Cester y Toutain 1997; Monlouis y col., 1997 Walker y col., 1992 ² ; Heinen, 2002 ¹ ; Küng y col., 1993
caballos	5,44	1,25	55-62,5	Peyrou y col., 2006; Giguere y col., 1996
	1,85-2,22	0,9	65,6-79,29	Boeckhn y col., 2001; Haines y col., 2000 ³
potros	2,12	2,2	42,00	Bermingham y col., 2000
conejos	0,452	2,3	61,20	Broome y col., 1991
elefantes	1,31	5	x	Sánchez y col., 2005 ¹
cabras	2,77	4	14,60	Gandolf y col., 2006 ⁴
ovejas	2,26	8	94,60	Bermingham y Papich., 2002 ¹
alpacas	1,42	4	29,44	Gandolf y col., 2005 ⁴
camellos	0,7-1,7	6,29-10,43	x	Harron y col., 1997 ¹
llamas	0,76	1,13	32,50	Kreil y col., 2001 ⁴

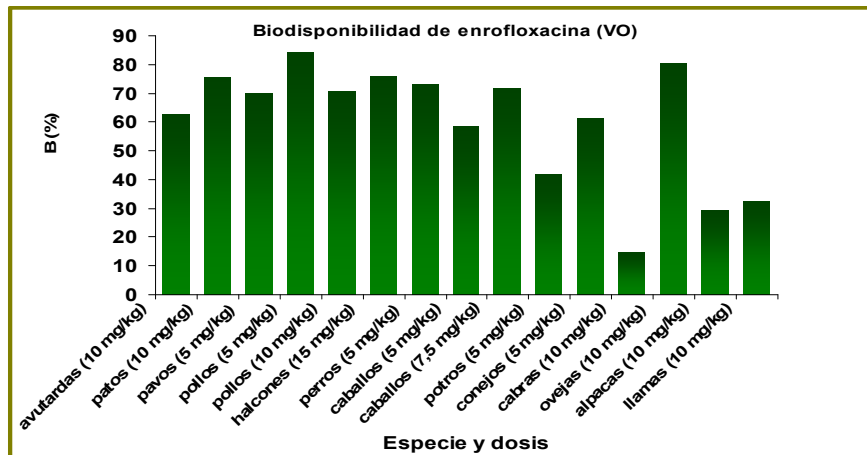
¹ 2,5 mg/kg; ² 5,5 mg/kg; ³ 7,5 mg/kg; ⁴ 10 mg/kg; ⁵ 15 mg/kg



Gráfica 13.- Concentración máxima (C_{max}) oral de la enrofloxacin.



Gráfica 14.- Tiempo máximo (T_{max}) oral de la enrofloxacin.



Gráfica 15.- Biodisponibilidad (F) oral de la enrofloxacin.

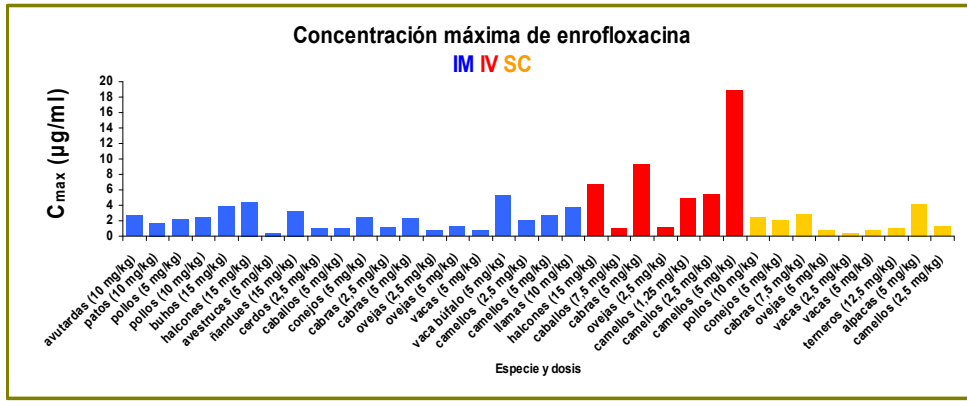
Biodisponibilidad parenteral

La biodisponibilidad parenteral de la enrofloxacin es prácticamente completa en todas las especies estudiadas alcanzando el pico de concentración plasmática entre 1 y 2 horas postadministración. Quizás la vía más utilizada ha sido siempre la vía intramuscular, sin embargo los últimos estudios demuestran que la vía subcutánea presenta también una elevada biodisponibilidad.

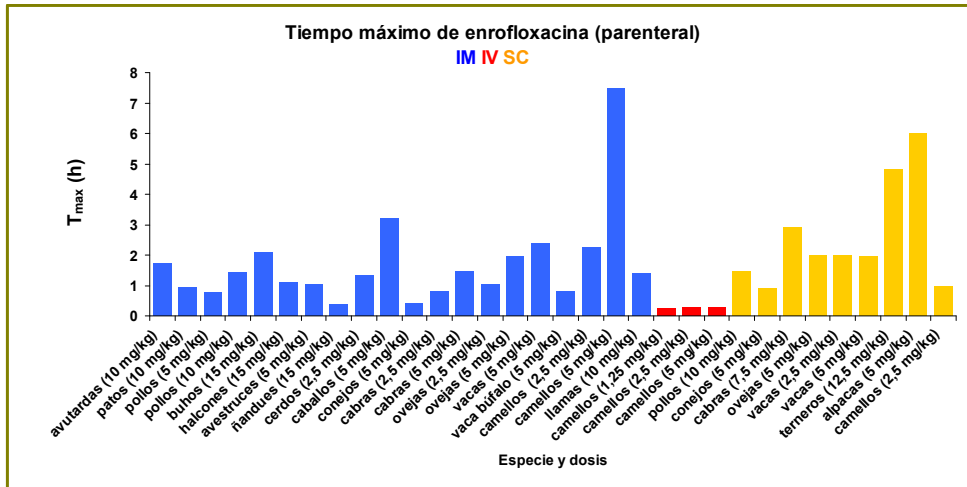
Tabla 17.- Concentración máxima (C_{max}), tiempo máximo (T_{max}) y biodisponibilidad (F) parenteral de la enrofloxacin.

VÍA	ESPECIE	C_{max} (μ g/ml)	T_{max} (h)	F(%)	AUTOR
IM	avutardas	2,75	1,72	97,3	Bailey y col., 1998 ⁴
	patos	1,67	0,94	x	Intorre y col., 1997 ⁴
	pollos	2,10-2,45	0,79-1,43	98,6-87,51	Bugyei y col., 1999; Abd-el-Aziz y col., 1997 ⁴
	búhos	3,8	2,1	x	Harrenstien y col., 2000 ⁶
	halcones	4,5	1,1	87	Harrenstien y col., 2000 ⁶
	avestruces	0,44	1,05	91	de Lucas y col., 2004
	ñandúes	3,30	0,40	x	de Lucas y col., 2008a ⁶
	cerdos	0,75-1,19	0,92-1,78	77,46	Anadón y col., 1999; Pijpers y col., 1997 ²
	caballos	0,8-1,28	2,67-3,7	72,8	Kaartinen y col., 1997a
	conejos	1,9-3,04	0,41	90-92	Elmas y col., 2007; Cabanes y col., 1992
	cabras	1,13-3,25	0,8-1,85	90-98	Rao y col., 2001 ² Elsheikh y col., 2002; Elmas y col., 2001
	ovejas	0,74-1,29	0,83-1,96	75,35-85	Elsheikh y col., 2002 Haritova y col., 2003; Mengozzi y col., 1996 ²
	vacas	0,73	2,4	82	Kaartinen y col., 1995
	búfalos	0,49-10,2	0,75-0,85	x	Sharma y col., 2003; Verma y col., 1999
camellos	1,44-2,67	1,0-7,5	85	Harron y col., 1997; Gavrielli y col., 1995 ²	
llamas	3,72	1,4	107,2	Kreil y col., 2001 ⁴	
SC	pollos	2,41	1,46	80,78	Abd-el-Aziz y col., 1997 ⁴
	conejos	2,07	0,9	72,3	Broome y col., 1991
	cabras	2,91	2,9	x	Ramesh y col., 2002 ³
	ovejas	0,66	2	50,62	Rahal y col., 2006
	vacas	0,24-0,98	1,21-3,2	137	McKellar y col., 1999 ² de Lucas y col., 2008b; Kaartinen y col., 1995
	terneros	0,96	4,8	x	Davis y col., 2007 ⁵
	alpacas	4,16	6,0	90,18	Gandolf y col., 2005
	camellos	1,23	1	92	Gavrielli y col., 1995 ²

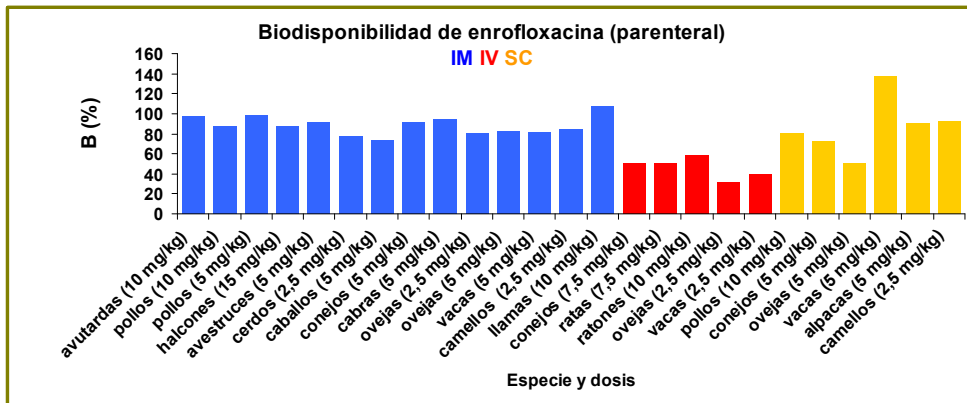
¹ 1,25 mg/kg; ² 2,5 mg/kg; ³ 7,5 mg/kg; ⁴ 10 mg/kg; ⁵ 12,5 mg/kg; ⁶ 15 mg/kg



Gráfica 16.- Concentración máxima (C_{max}) parenteral de la enrofloxacin.



Gráfica 17.- Tiempo máximo (T_{max}) parenteral de la enrofloxacin.



Gráfica 18.- Biodisponibilidad (F) parenteral de la enrofloxacin.

I.3.5.4.2.- Distribución

En la mayoría de las especies animales el volumen de distribución de la enrofloxacin es elevado. Se alcanzan altas concentraciones en saliva y secreción nasal, en mucosa, epitelio y secreción bronquial así como en el hígado y en el tracto urinario. Penetran bien en el tejido pulmonar, fluido de revestimiento y macrófagos alveolares. La enrofloxacin llega con rapidez a la glándula mamaria (Sumano López, H., 1993).

La enrofloxacin llega a todos los órganos y tejidos en bovinos, porcinos, perros, gatos, pollos y pavos, siendo la pauta de distribución muy similar en todas las especies estudiadas, con elevadas concentraciones.

La enrofloxacin presenta una tasa de unión a proteínas cercana al 20 % en caballos y pollos, al 30 % en perros, gatos, pavos y cerdos, al 50 % en vacas, ratas y ratones y de alrededor del 70 % en ovejas y conejos (Villa y col., 1997; Bregante y col., 2000).

El volumen de distribución que se alcanza tras la administración intramuscular está entre los 1,5 L en las cabras y 3,6 L de las llamas, mientras que tras la administración intravenosa estos valores se superan ampliamente, llegando a alcanzar valores de 4 y 5 L en aves (incluidas ratites). Lo mismo ocurre con la vía oral.

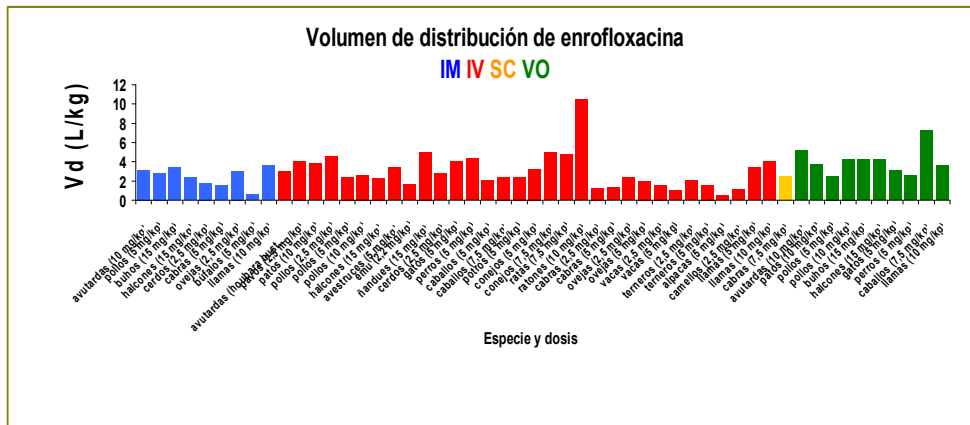
Tabla 18.- Volumen de distribución (Vd) de la enrofloxacin (5mg/kg).

VÍA	ESPECIE	Vd(L/kg)	AUTOR
IM	avutardas	3,18	Bailey y col., 1998 ⁶
	pollos	2,82	Bugyei y col., 1999
	búhos	3,4	Harrenstien y col., 2000 ⁸
	halcones	2,4	Harrenstien y col., 2000 ⁸
	cerdos	1,77	Pijpers y col., 1997; Anadón y col., 1999 ³
	cabras	1,51	Elmas y col., 2001; Elsheikh y col., 2002
	ovejas	3,03	Haritova y col., 2003; Mengozzi y col., 1996 ³
	búfalos	0,61	Sharma y col., 2003; Verma y col., 1999
	llamas	3,6	Kreil y col., 2001 ⁶
SC	cabras	2,48	Ramesh y col., 2002 ⁵
VO	avutardas	5,12	Bailey y col., 1998 ⁶
	pollos	2,52-4,30	Haritova y col., 2004; Bugyei y col., 1999; da Silva y col., 2006 Anadón y col., 1995a; Abd-el-Aziz y col., 1997; Solimán, G.A., 2000 ⁶ Knoll y col., 1999; Dimitrova y col., 2007; Intorre y col., 1997 ⁶
	búhos	4,2	Harrenstien y col., 2000 ⁸
	halcones	4,2	Harrenstien y col., 2000 ⁸
	gatos	3,1	Richez y col., 1997a
	perros	2,6	Frazier y col., 2000; Bidgood y Papich, 2005; Cester y Toutain 1997; Küng y col., 1993; Monlouis y col., 1997
	elefantes	0,00209	Sánchez y col., 2005 ³
	llamas	3,6	Kreil y col., 2001 ⁶

(Continúa en la página siguiente)

VÍA	ESPECIE	Vd(L/kg)	AUTOR
IV	avutardas	2,98	Bailey y col., 1998 ⁶
	pavos	4,06	Haritova y col., 2004 ³
	patos	3,46-4,53	Dimitrova y col., 2007; Dimitrova y col., 2006 ⁶
	pollos	1,98-2,92	Haritova y col., 2004 ³ ; Bugyei y col., 1999; García-Ovando y col., 1999 Solimán, G.A., 2000; Knoll y col., 1999 ; Anadón y col., 1995a; Abd-el-Aziz y col., 1997 ⁶
	halcones	2,3	Harrenstien y col., 2000 ⁸
	avestruces	3,4	de Lucas y col., 2004
	emúes	1,62	Helmick y col., 1997 ²
	ñandúes	5,01	de Lucas y col., 2005a ⁸
	cerdos	1,19-3,9	Cox y col., 2004; Anadón y col., 1999; Pijpers y col., 1997 Richez y col., 1994 ³
	gatos	4	Richez y col., 1997a
	perros	2,35-7	Cester y col., 1996; Küng y col., 1993; Monlouis y col., 1997
	caballos	1,658-2,46	Peyrou y col., 2006; Papich y col., 2002; Kaartinen y col., 1997a Haines y col., 2000; Boeckhn y col., 2001 ⁵
	potros	2,47	Birmingham y col., 2000
	conejos	0,93-4,94	Elmas y col., 2007; Cox y col., 2004; Broome y col., 1991 Cabanes y col., 1992; Bregante y col., 1999 ⁵
	ratas	4,78	Bregante y col., 1999 ⁵
	ratones	10,5	Bregante y col., 1999 ⁶
	cabras	0,80-1,94	Rao y col., 2002 ³ ; Elmas y col., 2001; Elsheikh y col., 2002; Gandolf y col., 2006
	ovejas	0,97-3,02	Bregante y col., 1999; Haritova y col., 2003; Mengozzi y col., 1996 ³ Rahal y col., 2006; Birmingham y Papich., 2002; Elsheikh y col., 2002
	vacas	0,44-1,56	Idowu y col., 2010; Varma y col., 2003; Kaartinen y col., 1995 Bregante y col., 1999; Cox y col., 2004 ³
	terneros	1,81-2,28	Idowu y col., 2010; Kaartinen y col., 1997b ³
alpacas	0,44	Gandolf y col., 2005	
camellos	1,13	Gavrielli y col., 1995; Harron y col., 1997 ³	
llamas	3,46-4,0	Christensen y col., 1996; Kreil y col., 2001 ⁶	

¹ 1,25 mg/kg; ² 2,2 mg/kg; ³ 2,5 mg/kg; ⁴ 5,5 mg/kg; ⁵ 7,5 mg/kg; ⁶ 10 mg/kg;
⁷ 12,5 mg/kg; ⁸ 15 mg/kg



Gráfica 19.- Volumen de distribución (Vd) de la enrofloxacin.

En vacas, tras la administración intravenosa de enrofloxacin, el pico de concentración en leche se alcanzó entre 0,7 horas y 1,3 horas, mientras que para el metabolito, la ciprofloxacina, este pico apareció después (5-8 horas). En conejas, la relación leche/plasma de la enrofloxacin y la ciprofloxacina, medida como AUC_{leche}/AUC_{plasma} fue de 2,59 y 3,61, respectivamente (Aramayona y col., 1996). Soback y col., (1994) encontraron concentraciones en leche hasta 40 veces superiores a las correspondientes concentraciones séricas tras la administración de nicotinato de norfloxacina a ovejas.

1.3.5.4.3.- Eliminación: metabolismo y excreción

La enrofloxacin se metaboliza parcialmente a ciprofloxacina, la cual es responsable en algunas especies de una considerable parte de la actividad antimicrobiana (Kaartinen y col., 1995; Mengozzi, G., 1996; Küng y col., 1993; Anadón y col., 1995a). El metabolismo se lleva a cabo en el hígado, y posiblemente en otros sitios como la ubre (Malbe y col., 1996) o los macrófagos (Hawkins y col., 1998). El efecto de primer paso hepático es bajo, aproximadamente del 7 % (Cester y Toutain, 1997). Las concentraciones plasmáticas del metabolito con respecto al fármaco madre (AUC) son de 35-55 % en ovejas (Mengozzi, G., 1996), 29 % en vacas (Malbe y col., 1996) y 25 % en terneros (Richez y col., 1994).

En perros, se encontraron concentraciones de enrofloxacin en bilis y orina 10-20 veces mayores que las concentraciones registradas en plasma (Brown, S.A., 1996).

Los datos de los que se dispone indican que el aclaramiento plasmático se sitúa entre 0,5 y 1 L/kg·h en la mayoría de las especies no observándose diferencias significativas según la vía de administración, ni la dosis administrada. La semivida de eliminación sin embargo es mucho más variable, desde menos de una hora en las ratites hasta 11 horas e incluso 19 horas en otras aves. Algo similar se observa en el tiempo medio de residencia.

Tabla 19.- Semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$), aclaramiento plasmático (Cl) y tiempo medio de residencia (MRT) de la enrofloxacin (5 mg/kg).

VÍA	ESPECIE	$t_{1/2\lambda}$ (h)	Cl(L/kg·h)	MRT(h)	AUTOR
IM	avutardas	6,39	0,4	9,5	Bailey y col., 1998 ⁶
	patos	x	1,03	8,35	Intorre y col., 1997 ⁶
	pollos	4,06-10,6	0,25	12,5	Bugyei y col., 1999; Abd-el-Aziz y col., 1997 ⁶
	búhos	11,4	x	x	Harrenstien y col., 2000 ⁸
	halcones	11,0	x	x	Harrenstien y col., 2000 ⁸
	avestruces	0,86	x	1,55	de Lucas y col., 2004
	ñandúes	2,85	x	1,95	de Lucas y col., 2008a ⁸
	cerdos	5,49-12,6	0,10	7,64-17,74	Pijpers y col., 1997; Richez y col., 1994 ¹ Anadón y col., 1999 ³
	caballos	9,9	x	15	Kaartinen y col., 1997a

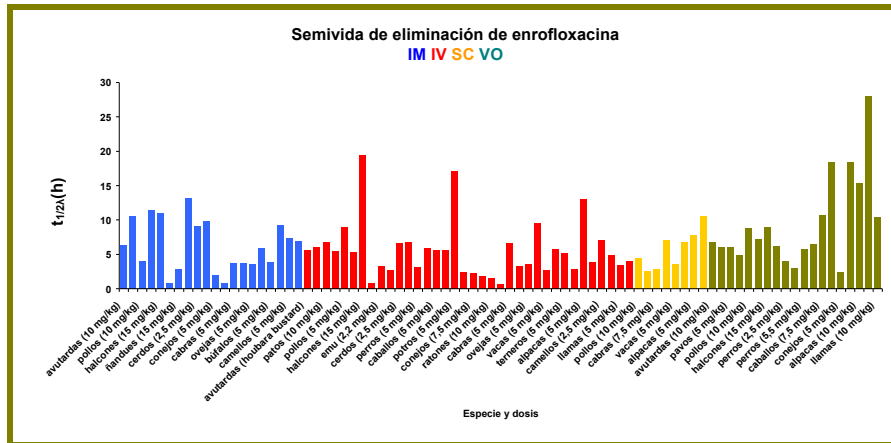
(Continúa en la página siguiente)

VÍA	ESPECIE	t _{1/2λ} (h)	CI(L/kg•h)	MRT(h)	AUTOR
IM	conejos	1,86-2,4	1,33	x	Elmas y col., 2007; Cabanes y col., 1992
	cabras	0,74-4,70	0,26-1,33	1,54-5,75	Elmas y col., 2001; Elsheikh y col., 2002 Rao y col., 2001 ³
	ovejas	3,65-3,87	0,62	4,52-5,23	Haritova y col., 2003; Elsheikh y col., 2002 Mengozzi y col., 1996 ³
	vacas	5,9	x	7,98	Kaartinen y col., 1995
	búfalos	1,97-5,63	1,34	3,13-6,30	Sharma y col., 2003; Verma y col., 1999
	camellos	3,36-16,69	x	x	Gavrielli y col., 1995; Harron y col., 1997 Harron y col., 1997 ³
	llamas	6,91	0,33	11,43	Kreil y col., 2001 ⁶
IV	avutardas	5,63	0,34	8,13	Bailey y col., 1998 ⁶
	pavos	6,05	0,50	8,32	Haritova y col., 2004 ³
	patos	6,64-6,81	0,38-0,49	8,96	Dimitrova y col., 2007; Dimitrova y col., 2006 ⁶
	pollos	5,54-10,96	0,19-0,66	6,38-12,5	García-Ovando y col., 1999; Knoll y col., 1999 Bugyei y col., 1999; Solimán, G.A., 2000 Haritova y col., 2004 ³ ; Anadón y col., 1995a Abd-el-Aziz y col., 1997 ⁶
	halcones	19,4	x	x	Harrenstien y col., 2000 ⁸
	avestruces	0,78	4,56	0,7	de Lucas y col., 2004
	emúes	3,33	0,36	4,4	Helmick y col., 1997 ²
	ñandúes	2,66	3,95	1,23	de Lucas y col., 2005a ⁸
	cerdos	5,51-9	0,10-0,48	6,66-11,87	Cox y col., 2004; Anadón y col., 1999 Pijpers y col., 1997; Richez y col., 1994 ³
	gatos	6,7	0,57	8,6	Richez y col., 1997a
	perros	2,4-4,4	0,65-1,62	5,4	Cester y col., 1996; Küng y col., 1993 Monlouis y col., 1997
	caballos	4,4-6,676	0,14-0,56	3,67-8,43	Peyrou y col., 2006; Papich y col., 2002 Haines y col., 2000; Giguere y col., 1996 ³ Boeckhn y col., 2001 ⁵ ; Kaartinen y col., 1997a
	potros	17,10	0,103	24,31	Bermingham y col., 2000
	conejos	1,9-3	0,61-1,7	1,55-3,4	Elmas y col., 2007; Cox y col., 2004 Broome y col., 1991; Bregante y col., 1999 ⁵ Cabanes y col., 1992
	ratas	1,8	1,28	1,31	Bregante y col., 1999 ⁵
	ratones	1,48	4,09	1,1	Bregante y col., 1999 ⁶
	cabras	0,73-13,3	0,19-1,33	0,97-4,65	Elmas y col., 2001; Rao y col., 2002 ³ Elsheikh y col., 2002; Gandolf y col., 2006
	ovejas	2,5-4,77	0,20-0,86	3,22-5,36	Rahal y col., 2006; Bregante y col., 1999 Haritova y col., 2003; Mengozzi y col., 1996 ³ Bermingham y Papich., 2002; Elsheikh y col., 2002
	vacas	2,82-16,3	0,45-1,45	1,05-3,48	Bregante y col., 1999; Idowu y col., 2010 Varma y col., 2003; Kaartinen y col., 1995 Cox y col., 2004 ³
	terneros	4,87-6,61	0,19-0,7	2,27-10,32	Idowu y col., 2010; Kaartinen y col., 1997b ³
búfalos	2,87	1,67	3,89	Sharma y col., 2003	
alpacas	13,04	0,084	4,85	Gandolf y col., 2005	
camellos	3,59-11,85	0,28	4,35	Gavrielli y col., 1995; Harron y col., 1997 Harron y col., 1997 ³ ; Harron y col., 1997 ¹	
llamas	3,38-3,94	0,70-0,75	4,95-5,04	Christensen y col., 1996; Kreil y col., 2001 ⁶	

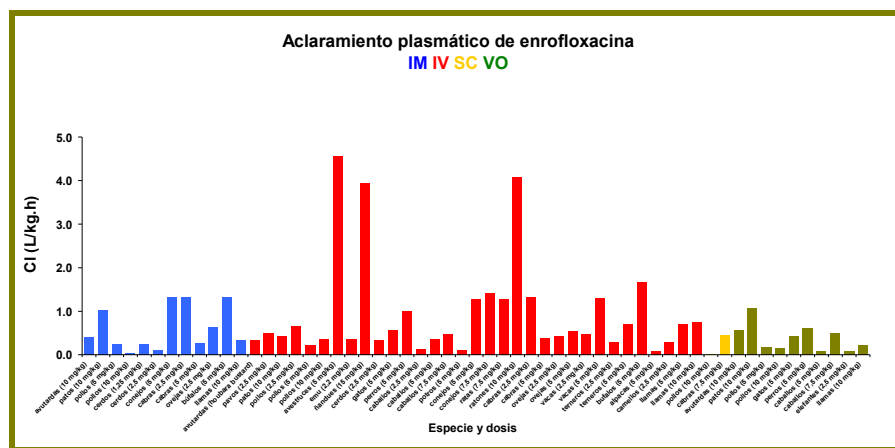
(Continúa en la página siguiente)

VÍA	ESPECIE	$t_{1/2\lambda}$ (h)	Cl(L/kg•h)	MRT(h)	AUTOR
SC	pollos	4,48	0,02	x	Abd-el-Aziz y col., 1997 ⁶
	conejos	2,5	x	1,46	Broome y col., 1991
	cabras	2,84	0,45	5,74	Ramesh y col., 2002 ⁵
	ovejas	7,12	x	11,23	Rahal y col., 2006
	vacas	2,34-5,55	x	3,24-8,4	de Lucas y col., 2008b Kartinen y col., 1995; McKellar y col., 1999 ³
	terneros	6,79	x	x	Davis y col., 2007 ⁷
	alpacas	7,83	x	10,33	Gandolf y col., 2005
	camellos	10,58	x	x	Gavrielli y col., 1995 ³
VO	avutardas	6,80	0,55	10,1	Bailey y col., 1998 ⁶
	patos	5,24-6,87	0,57-1,56	6,01-11,91	Dimitrova y col., 2007; Intorre y col., 1997 ⁶
	pavos	5,98	x	8,67	Haritova y col., 2004
	pollos	4,29-14,14	0,18-0,29	7,58-15,40	da Silva y col., 2006; Haritova y col., 2004 Bugyei y col., 1999; Anadón y col., 1995a Abd-el-Aziz y col., 1997; Knoll y col., 1999 Solimán, G.A., 2000 ⁶
	búhos	7,2	x	x	Harrenstien y col., 2000 ⁸
	halcones	8,9	x	x	Harrenstien y col., 2000 ⁸
	gatos	6,2	0,47	8,7	Richez y col., 1997a
	perros	2,23-5,79	0,61	3,75-6,6	Bidgood y Papich, 2005; Heinen, 2002 ³ Frazier y col., 2000; Cester y Toutain 1997 Küng y col., 1993; Walker y col., 1992 ⁴ Monlouis y col., 1997
	caballos	6,1-10,7	0,09	3,83-10,16	Giguere y col., 1996; Boeckhn y col., 2001 ⁵ Peyrou y col., 2006
	potros	18,39	x	26,73	Birmingham y col., 2000; Haines y col., 2000
	conejos	2,41	x	8,46	Broome y col., 1991
	elefantes	18,4	0,08	30,3	Sánchez y col., 2005 ³
	cabras	5,22	x	8,52	Gandolf y col., 2006 ⁶
	ovejas	x	x	19,24-19,95	Birmingham y Papich., 2002 ⁶
	alpacas	15,32	x	21,98	Gandolf y col., 2005 ⁶
	camellos	27,96-28,1	x	x	Harron y col., 1997 ³
llamas	10,34	0,22	16,33	Kreil y col., 2001 ⁶	

¹ 1,25 mg/kg; ² 2,2 mg/kg; ³ 2,5 mg/kg; ⁴ 5,5 mg/kg; ⁵ 7,5 mg/kg; ⁶ 10 mg/kg; ⁷ 12,5 mg/kg; ⁸ 15 mg/kg



Gráfica 20.- Semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$) de la enrofloxacin.



Debido a que los camélidos constituyen un grupo muy afín a los rumiantes, describiremos algunas de las particularidades que presentan estas especies

Particularidades farmacocinéticas en rumiantes

Tras la administración oral de un fármaco para producir efecto sistémico a un rumiante lo primero a tener en cuenta es el enorme volumen del contenido retículo-ruminal que produce una gran dilución del fármaco administrado. El tiempo en que se alcanzan concentraciones uniformes es mayor según la disposición de la ingesta y el sistema de mezcla del contenido ruminal. Además los fármacos pueden ser administrados en forma líquida, como soluciones o suspensiones, mezclados con el alimento o con el agua de bebida, o en formas sólidas, como tabletas, bolos, cápsulas o formas especiales de liberación, y cada una de ellas llegará de forma distinta hasta el rumen y se mezclará también de diferente forma. En general, las formas líquidas llegan directamente al retículo y zonas próximas, por lo que una gran cantidad de fármaco puede pasar a través del orificio retículo-omasal antes de que se produzca la mezcla, permitiendo que una parte de la dosis se escape de la degradación ruminal y llegue más rápidamente al intestino delgado donde será absorbido.

La absorción de ácidos grasos volátiles y agua se produce a través del epitelio ruminal. El agua se mueve libremente atravesando la pared ruminal en ambas direcciones dependiendo del gradiente osmótico. Los factores físico-químicos relacionados con la absorción de sustancias a través de la pared ruminal son el grado de ionización (en función del pH), el tamaño de las moléculas y el gradiente de concentración. La tasa de absorción desde el rumen dependerá de la concentración de fármaco en forma no ionizada relacionado directamente con la concentración y pKa del fármaco y del pH del medio ruminal. También hay que tener en cuenta que cuando los fármacos se administran por vía intravenosa, el fármaco puede pasar a través de la pared ruminal hacia el interior del rumen, pudiendo provocar variaciones en el volumen de distribución del mismo.

Raggi Saini y Crossley Cabezo en 1990 indican como según algunos autores los sacos glandulares del rumen aportan cantidades significativas de bicarbonato, contribuyendo a la acción tamponadora de la ingesta, mientras que otros autores sugieren que la principal función de esta región glandular es permitir una rápida absorción de solutos y agua. Señalan que la tasa de absorción en el rumen retículo de los CSA es 2 a 3 veces superior a la observada en el rumen de ovinos y caprinos. La tasa de absorción puede modificarse por el alimento ya que este provoca un aumento del flujo sanguíneo de la mucosa retículo-ruminal. En bovinos adultos con una motilidad ruminal normal, la semivida de vaciado del retículo-rumen a través del orificio retículo-omasal es de 5-7 horas para el componente líquido de la ingesta mientras que para los componentes más groseros o después de periodos de inanición, este tiempo es mayor. El tiempo de retención del alimento en rumen es mayor en camélidos que el observado en otros rumiantes.

El fármaco soluble puede depositarse en retículo y parte de la dosis puede pasar rápidamente al omaso, abomaso e intestino delgado haciendo que la absorción sea rápida e incrementando la concentración plasmática. El fármaco restante pasaría al rumen, mezclándose lentamente con la ingesta y de aquí al omaso ya que se encuentra diluido en el contenido ruminal. Por todo ello, las curvas de concentraciones de un fármaco deben ser interpretadas con cuidado puesto que un aumento en las concentraciones plasmáticas por una absorción intestinal de la porción de fármaco que escapa al rumen puede ser confundido con una absorción a nivel ruminal.

También hay que tener en cuenta que la cinética de los fármacos administrados a animales enfermos, puede cambiar drásticamente. En general, las concentraciones plasmáticas son mucho más bajas cuando existe una atonía ruminal, debido a la reducción en la velocidad de paso hacia el omaso, la reducción en el flujo sanguíneo de la mucosa ruminal, la falta de un mezclado efectivo que permita el contacto correcto del fármaco con la superficie de absorción, la pérdida del movimiento de las papilas, la alteración de la actividad microbiana, el cese de la rumia, cambios en el pH, la temperatura y la osmolaridad del contenido y cambios en la ingesta de alimentos, agua y saliva. Por otro lado la microbiota del rumen incluye bacterias, protozoos, hongos y levaduras y los fármacos pueden actuar sobre ella, de la misma forma que las bacterias del rumen pueden realizar una amplia variedad de transformaciones bioquímicas y esos productos pueden tener consecuencias patológicas o afectar los procesos digestivos o nutricionales.

Otro factor que puede influir en la farmacocinética en rumiantes es la producción de saliva. La saliva es una solución tamponada responsable de la neutralización de los ácidos orgánicos formados en los preestómagos de forma que se alcance un pH ruminal de 5,6-6,5 que es necesario para el mantenimiento de la microflora. La urea presente en la saliva sirve como fuente de nitrógeno para la síntesis de proteínas microbianas. La producción total de saliva puede llegar a ser de 100-200 L/día en bovinos y 10 L/día en ovinos. Las particularidades de pH y volumen de la saliva de los rumiantes pueden influir en el comportamiento cinético de algunos fármacos, ya que estos pueden seguir el circuito rumen-sangre-saliva.

Otra particularidad anatómica de los rumiantes que puede influir en la farmacocinética de un compuesto administrado por vía oral es la presencia de la gotera reticular. El momento en el que el mecanismo reflejo de cierre de esta estructura deja de producirse espontáneamente está en relación con el desarrollo del resto de las estructuras digestivas del rumiante que a su vez dependerá de la dieta ingerida, por lo que la edad a la que se produce varía ampliamente, entre las 6 semanas y los 20 meses. Sin embargo, los rumiantes adultos mantienen la capacidad y pueden cerrar la estructura siempre que reciban estímulos específicos. La naturaleza química del alimento puede variar la incidencia del cierre. De esta manera, alimentos ricos en proteínas de leche, soja y pescado y los componentes del suero de leche pueden favorecer el reflejo. La naturaleza física (líquido/sólido) y el mecanismo de administración de los alimentos también pueden influir (la

succión de líquidos favorece el cierre). La sed, el apetito y reflejos condicionados también actúan a este nivel.

En cuanto al pH urinario, no debemos olvidar que en los rumiantes es básico con valores que oscilan entre 7,8 y 8,4 en vacas y 7,5 y 8,5 en camélidos (Lackey y col., 1995), valores que afectan a la excreción de fármacos.

I.3.6.- Actividad antimicrobiana

I.3.6.1.- Actividad *in vitro*

Las quinolonas presentan una acción bactericida concentración-dependiente, aunque algunos autores sugieren que esta acción concentración dependiente está relacionada principalmente con la actividad contra bacterias gram-negativas, mientras que, para el caso de los microorganismos gram-positivos, el efecto de las quinolonas sería tiempo-dependiente (Keck y Borne, 1995; Spreng y col., 1995; Cester y col., 1996); no obstante, esta segunda opción apenas es considerada por otros autores (Walker y Dowling, 2006).

La sensibilidad *in vitro* de las bacterias a las quinolonas está relacionada con el pH. La norfloxacin, ciprofloxacina u ofloxacina son más activas a pH 7.4 que a pH 5.6, mientras que para las quinolonas antiguas como el ácido nalidíxico, la flumequina, la cinoxacina o el ácido oxolínico, ocurre lo contrario (Phillips y col., 1988). Las fluoroquinolonas son más activas en medios alcalinos contra bacterias gram-negativas, mientras que la sensibilidad de las bacterias gram-positivas no se ve afectada por el pH (Brown, S.A., 1996). Aparentemente, las quinolonas con un anillo piperacínico en C₇ son menos activas en condiciones ácidas y las que no poseen este sustituyente son menos activas en medio alcalino.

Los fluoroquinolonas poseen un amplio espectro de actividad que incluye bacterias gram-negativas, gram-positivas, micoplasmas y anaerobios, aunque algunos autores indican que el aumento de actividad frente a gram-positivos resulta como consecuencia de una menor actividad contra microorganismos gram-negativos (Percival, A., 1991).

Las quinolonas, como el ácido oxolínico, el ácido nalidíxico, el ácido pipemidínico y la cinoxacina, son activas frente a especies de la familia *Enterobacteriaceae*. Las fluoroquinolonas como la norfloxacin y la ciprofloxacina poseen mayor actividad que las quinolonas antiguas frente a estos microorganismos. (Barry, A.L., 1989), mientras que la difloxacina es uno de los menos activos (Phillips y col., 1988). En general, todas ellas son efectivas frente a aerobios gram-negativos como *Campylobacter spp.*, *Aeromonas spp.* y algunas especies de *Pseudomonas*, *Brucella*, *Pasteurella*, *Moraxella*, *Bordetella*, *Haemophilus* (sobre todo *Haemophilus influenzae*), *Vibrio*, *Neisseria*, *Acinetobacter*, *Gardnerella*, *Branhamella* y *Legionella* (Barry, A.L., 1989; Phillips y col., 1988; Vancutsem y col., 1990; Brown, S.A., 1996; Lecoer Bitchatchi y Kolf Clauw, 1998; García y col., 2000).

Los bacilos entéricos son menos sensibles a las quinolonas, igual que a la difloxacin, mientras que las fluoroquinolonas modernas son efectivas frente a *Pseudomonas* como *Ps. fluorescens*, *Ps. acidovorans* o *Ps. putida*, (Phillips y col., 1988; Barry, A.L., 1989), *Moraxella spp.*, *Brucella melitensis*, *Pasteurella multocida* y *Bordetella bronchiseptica* (Phillips y col., 1988).

La mayoría de las fluoroquinolonas son relativamente efectivas contra los cocos gram-positivos, *Listeria spp.* y *Corynebacterium spp.*, mientras que estreptococos, enterococos y los bacilos gram-positivos suelen ser resistentes, variando su sensibilidad: el ácido nalidíxico carece de actividad y la temafloxacin o la gemifloxacin son más potentes que la ciprofloxacina o la ofloxacina (Brown, S.A., 1996; Hardy y col., 2000). La sparfloxacin o tosufloxacin han demostrado buena actividad contra *Corynebacterium spp.*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus spp.* (Brown, S.A., 1996). En general todos los compuestos son más activos contra estafilococos que contra estreptococos. (Phillips y col., 1988; Barry, A.L., 1989).

Aunque las fluoroquinolonas poseen cierta actividad contra microorganismos anaerobios, algunos autores indican que deben ser considerados clínicamente resistentes (Watt y Brown, 1986; Fernandes y col., 1986; Barry, A.L., 1989). Sólo algunas de las fluoroquinolonas más modernas, como temafloxacin, levofloxacin, sparfloxacin, trovafloxacin, moxifloxacin, grepafloxacin, premafloxacin, gatifloxacin y, sobre todo, clinafloxacin y sitafloxacin poseen cierta actividad contra bacterias anaerobias (Phillips y col., 1988; Barry, A.L., 1989; Boswell y Wise, 1998; Ihrke y col., 1999; Appelbaum, P.C., 1999).

Las micobacterias suelen ser poco sensibles a las fluoroquinolonas. La ciprofloxacina, levofloxacin y grepafloxacin son las que tienen mayor actividad contra *M. tuberculosis* mientras que la trovafloxacin o la gemifloxacin son poco activas frente este microorganismo (Ruiz Serrano y col., 2000). *Nocardia asteroides* y *Ureaplasma ureolyticum* son, normalmente, resistentes a las quinolonas.

Las difloxacin y ciprofloxacina son activas contra patógenos intracelulares como clamidias y micoplasmas (El Bahri y Blouin, 1991; Brown, S.A., 1996; Lecoer Bitchatchi y Kolf Clauw, 1998, Phillips y col., 1988). Y también se han encontrado algunas rickettsias sensibles a la pefloxacin (Phillips y col., 1988).

Respecto a las nuevas quinolonas no fluoradas, según Barry y col., en 2001, presentan la misma actividad *in vitro* que la trovofloxacin.

I.3.6.2.- Actividad *in vitro* de la marbofloxacina y de la enrofloxacin

Tanto la marbofloxacina como la enrofloxacin tienen buena actividad frente a bacterias gram-negativas y gram-positivas incluyendo algunos anaerobios patógenos. Son bactericidas y micoplasmicidas a bajas concentraciones y eficaces

contra microorganismos que son resistentes a los β -lactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas, antagonistas del ácido fólico y macrólidos.

La enrofloxacin se metaboliza en parte a ciprofloxacina y en algunas especies ese metabolismo es beneficioso desde el punto de vista microbiológico ya que muchas bacterias gram-negativas tienen valores de MIC menores para la ciprofloxacina, siendo probable que el efecto antimicrobiano sea aditivo entre el fármaco madre y el metabolito.

Tabla 20.- Actividad *in vitro* de la marbofloxacina y la enrofloxacin frente a los principales patógenos.

MICROORGANISMO	MARBOFLOXACINA		ENROFLOXACINA	
	MIC ₅₀ (μ g/ml)	MIC ₉₀ (μ g/ml)	MIC ₅₀ (μ g/ml)	MIC ₉₀ (μ g/ml)
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	0,016 ²	0,027	0,016 ²	$\geq 0.02^1$
<i>Actinobacillus pyogenes</i>				$\geq 1.0^1$
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	0,25 ²	0,794	0,25 ²	$\geq 2.0^1$
<i>Campylobacter jejuni</i>				$\geq 1.0^1$
<i>Campylobacter coli</i>				$\geq 2.0^1$
<i>Campylobacter pseudotuberculosis</i>				$\geq 0.1^1$
<i>Chlamidia psittaci</i>				$\geq 0.2^1$
<i>Enterobacter spp.</i>	0,018-0,02	0,11-0,28		
<i>Enterococcus spp.</i>				$\geq 1.0^1$
<i>Escherichia coli</i>	0,011 ⁴ -0,016 ²	0,145-0,25	0,03 ²	0,05-0,2
<i>Haemophilus somnus</i>	0,021	0,03		
<i>Klebsiella spp.</i>	0,02-0,04	0,05-0,085		$\geq 0.05^1$
<i>Mycoplasma agalactiae</i>			0,25 ³	$\geq 0.2^1$
<i>Mycoplasma bovis</i>	0,35	0,48	0,1 ³	$\geq 0.2^1$
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	0,03	0,06	0,025 ³	0,05 ³ -0,2
<i>Mycoplasma hyosynoviae</i>			0,1 ³	$\geq 0.2^1$
<i>Mycoplasma iowae</i>			0,025 ³	$\geq 0.4^1$
<i>Mycoplasma sinoviae</i>			0,25 ³	$\geq 0.4^1$
<i>Pasteurella haemolytica</i>	0,016 ² -0,019	0,17		$\geq 0.02^1$
<i>Pasteurella multocida</i>	0,013 ⁴	0,029-0,057 ⁴	0,008 ²	$\geq 0.02^1$
<i>Proteus spp.</i>	0,03	0,082		$\geq 0.2^1$
<i>Proteus mirabilis</i>				$\geq 0.05^1$
<i>Pseudomonas spp.</i>		1,8		$\geq 0.4^1$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,27	0,94		$\geq 1.0^1$
<i>Rodococcus equi</i>				$\geq 1.0^1$
<i>Salmonella spp.</i>	0,015 ⁴	0,073		$\geq 0.1^1$
<i>Salmonella typhimurium</i>				$\geq 0.02^1$
<i>Salmonella zooepidermicus</i>				$\geq 1.0^1$
<i>Staphylococcus spp</i>	0,24-1	0,49	0,5 ²	$\geq 0.4^1$
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,14 ⁴ -0,25 ²	0,217 ⁴ -0,5	0,12 ²	0,1- 0,2
<i>Staphylococcus dublin</i>				$\geq 0.02^1$
<i>Staphylococcus equi</i>				$\geq 1.0^1$
<i>Staphylococcus intermedius</i>	0,18	0,23		0,05- 0,1
<i>Streptococcus spp.</i>	0,68 ⁴ -1,7	3,8		$\geq 1.0^1$

Marbofloxacin Reference Book, 1999; Spreng y col., 1995; Thomas y col., 1997; ¹Otero y col., 2001a; ²Grobbe y col., 2007; ³Hamann y col., 1997; ⁴Meunier y col., 2004

I.3.7.- Efecto postantibiótico

El efecto postantibiótico (PAE) se define como la diferencia entre el tiempo que tarda un cultivo problema (el que se ha sometido a la acción del antimicrobiano) y un cultivo control del mismo tamaño de inóculo en crecer en 1 log UFC/ml, es decir, el efecto persistente de la inhibición del crecimiento bacteriano después de la exposición del microorganismo al agente antimicrobiano siendo:

$$\text{PAE} = T - C$$

Donde T es el tiempo que tarda el recuento de células viables en aumentar en 1 log desde el tiempo 0 en el cultivo problema y C es el tiempo correspondiente en el cultivo control.

Es necesario conocer el mantenimiento de la actividad antibacteriana para poder establecer los regímenes posológicos de los antimicrobianos. El efecto postantibiótico *in vitro* está en función del tiempo de contacto del antimicrobiano con la bacteria y de la concentración del antimicrobiano durante la fase de impregnación. Cuanto mayor es el tiempo de impregnación y mayor es la concentración, mayor será el efecto postantibiótico. La duración del efecto postantibiótico *in vivo* puede verse modificada por factores como la concentración de antimicrobiano alcanzada en el sitio de infección, el tiempo de exposición al antimicrobiano, el pH, tamaño del inóculo y medio en el que se encuentra el antimicrobiano. En el caso de macrólidos, tetraciclinas o cloranfenicol este efecto podría deberse al tiempo requerido para que el fármaco se libere de su unión al ribosoma y en el caso de los fármacos que ejercen su acción mediante inactivación de enzimas (β -lactámicos) indicaría el tiempo requerido por la bacteria para la síntesis de novo de dichas enzimas (Mediavilla y col., 1997).

Se ha demostrado que el PAE es una propiedad de todos los antibióticos, quienes lo inducen en mayor o menor grado. Todos los antibióticos parecen ser capaces de inducir PAE en cocos gram-positivos. Los PAE de mayor duración son inducidos sobre bacterias gram-negativas por aminoglucósidos, fluoroquinolonas y por antibióticos cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis proteica.

El modo por el cual los antibióticos inducen el PAE, no está aún claramente dilucidado, no obstante se presume que son varios los procesos involucrados. Un primer mecanismo propuesto es el enlentecimiento del eflujo de los antibióticos desde el citoplasma bacteriano. Esta hipótesis estaría corroborada por el hecho de que los β -lactámicos: cefalosporinas y monobactams, tienen un PAE muy corto o nulo sobre bacterias gram-negativas. La explicación a este comportamiento es que estos agentes pueden ejercer su acción sin necesidad de penetrar dentro del citoplasma bacteriano.

Otro modo propuesto, es que inducirían daños no letales a la bacteria por persistir en los sitios específicos de fijación, los cuales difieren según el

mecanismo de acción del antibiótico. En el caso de los β -lactámicos que actúan sobre la pared bacteriana, estos se unen de forma covalente a varias proteínas específicas (penicillin-binding proteins: PBP), muchas de las cuales son enzimas que intervienen en la síntesis de la pared bacteriana. En este sentido, el PAE representa el tiempo que la bacteria necesita para sintetizar nuevas enzimas (PBP).

El PAE, originalmente observado *in vitro* también ha sido demostrado en diferentes modelos animales y en general, el PAE observado *in vivo* es siempre mayor que el observado *in vitro*.

Las fluoroquinolonas son capaces de producir un efecto postantibiótico prolongado, tanto frente a bacterias gram-negativas como frente a algunas gram-positivas. *In vitro* el efecto postantibiótico se prolonga de 3 a 5 horas después de que la concentración del antimicrobiano en el medio de cultivo desciende por debajo de la MIC e *in vivo* se prolonga hasta 18 horas (Lecoeur Bitchatchi y Kolf Clauw, 1998). Según Brown, S.A., (1996), el efecto postantibiótico podría estar relacionado con disminución de la adherencia del microorganismo a las células. Lecoeur Bitchatchi y Kolf Clauw (1998) sugieren que la propiedad de inhibir el crecimiento bacteriano después de la exposición del microorganismo al agente antimicrobiano podría estar ligada a un refuerzo de los mecanismos de defensa del huésped (opsonización o fagocitosis facilitada), un defecto en la formación de la pared interna, un retardo en el crecimiento bacteriano o una pérdida de las capacidades de adhesión. Esto es importante ya que favorece la instauración de intervalos posológicos prolongados en el tratamiento con estos agentes (Ingerman y col., 1986; Vogelman y Craig, 1986).

El EPA de la marbofloxacin es de 0,7-4,62 horas y el de la enrofloxacin, de 1-4 horas según dosis y microorganismo (Marbofloxacin Reference Book, 1999; McKellar, Q.A. 1996; Spreng y col., 1995).

I.3.8.- Resistencias bacterianas

Desde la década de los años 60 (y anteriormente para otros antibióticos), el gran problema de la terapia antimicrobiana ha sido la aparición de resistencias. Esa fue una de las principales razones para que el ácido nalidixico dejara de utilizarse. En el año 1985 las resistencias frente a las quinolonas se volvieron algo común (Picco y col., 2009). Muchas enterobacterias incluyendo *Salmonella spp.* y *Shigella spp.* siguen siendo susceptibles, pero *Campylobacter spp.* ha generado ya resistencias y tiene unos valores de MIC₉₀ de 0,25 a 0,5 μ g/ml.

Se considera que un cambio de 2 a 8 veces la concentración mínima inhibitoria indica el desarrollo de resistencia. Según algunos autores la exposición a concentraciones subinhibitorias aumenta las posibilidades de selección de resistencias; aunque en la bibliografía podemos encontrar autores que indican la posibilidad de utilizar antibióticos a concentraciones subinhibitorias (Picco y col., 2009, Nanduri y col., 2008, Debbia y col., 2008).

La utilización de dosis sub-MIC tiene una doble vertiente: por un lado se puede producir un fracaso terapéutico e incluso favorecer el desarrollo de resistencias, pero por otro lado se ha descrito el efecto beneficioso de este régimen sub-MIC ya que modificaría la homeostasis bacteriana, haciéndola más sensible a otros antibióticos o a ser destruida por las defensas orgánicas.

Nanduri y col., (2008) estudiaron el efecto sub-MIC de enrofloxacin sobre *P. multocida* (que no presentaba resistencia a esta fluoroquinolona). La respuesta compensatoria global de *P. multocida* a sub-MIC de enrofloxacin se caracteriza por alteración en la expresión de factores de virulencia; proteínas involucradas en metabolismo de las purinas, respuesta al estrés, y sobrepermeabilidad celular. Estos procesos se basan en un efecto supresor de la sobreexpresión de algunas proteínas.

- Proteínas (enzimas) de rutas metabólicas centrales; en los procesos de glucolisis/gluconeogénesis disminuye significativamente la expresión de las enzimas fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, fosfoglicerato quinasa, fructosa bifosfato aldolasa y gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa.

- Reducir la expresión de genes que están bajo el control de los promotores del shock térmico.

- El metabolismo de las purinas se ve afectado al incrementarse la expresión de adenilato ciclasa y adenil succinato (que catalizan el primer y último paso en la conversión de inosina monofosfato a adenosina bifosfato).

- Disminución de la expresión de ciertas polimerasas (Rho) puede disminuir la semivida del ARNm en la bacteria.

- Disminución de la expresión de enzimas detoxicantes superóxido dismutasa y catalasa que constituyen una defensa importante para las bacterias.

En 1989, Chamberland y col., consideraron que las resistencias a las quinolonas por mutación de la ADN-girasa eran muy raras. Las resistencias mediadas por plásmidos no pudieron ser demostradas según Fernandes y col., (1986) y Brown, S.A. (1996.). Hoy día está demostrado que las resistencias bacterianas a las quinolonas se deben a dos procesos:

- Alteraciones en las enzimas diana.

- Alteraciones en la permeabilidad del fármaco y mecanismos de expulsión del antibacteriano.

Cualquiera de ellos puede manifestarse solo o en combinación aunque se cree que el grado de resistencia a las quinolonas *in vivo* puede deberse a la acción de varios mecanismos de forma simultánea. En los microorganismos gram-negativos las resistencias más frecuentes aparecen por mutaciones en la ADN-

girasa mientras que en las gram-positivos se producen por mutaciones en la topoisomerasa IV.

Alteraciones en las enzimas diana

Las enzimas diana de las quinolonas son la topoisomerasa II o ADN-girasa y la topoisomerasa IV. La ADN-girasa está formada por dos subunidades: A (Girasa A) y B (Girasa B). Las resistencias al ácido nalidíxico fueron causadas por mutaciones en el gen girasa A (GyrA), que alteraban la sensibilidad de *E. coli* al ácido nalidíxico. Posteriormente también se demostraron mutaciones en el gen girasa B (GyrB) que afectaban a dicha subunidad, aunque son menos frecuentes, y mutaciones espontáneas en bacterias gram-negativas que provocaban cambios en los aminoácidos de ambas subunidades (Hooper y Wolfson, 1993).

Intorre y col., en 2007 indican que la resistencia a las fluoroquinolonas en las bacterias gram-positivas se produce como resultado de cambios en la composición de aminoácidos, concretamente en la zona de la enzima denominada QRDR (quinolone-resistance-determining-region) dentro de la GyrA (topoisomerasa II: de ser-84 a leu o de glu-88 a lys) y ParC o GrlA (topoisomerasa IV: de ser-80 a arg). Estos cambios hacen que las enzimas sean menos susceptibles a las fluoroquinolonas.

Aunque las mutaciones en GyrA y ParC (GrlA) parecen ser necesarios para que se produzcan resistencias a las fluoroquinolonas algunos autores demostraron que puede haber excepciones, apareciendo resistencias a las fluoroquinolonas sólo por mutación en el gen GyrA.

Alteraciones en la permeabilidad del fármaco y mecanismo de expulsión del antibacteriano

Las alteraciones en la permeabilidad a las quinolonas es otro mecanismo por el cual se producen resistencias, ya que producen cambios en las proteínas de las membranas celulares y en los sistemas de expulsión por alteración en la actividad de las bombas de eflujo-energía. La reducción en los poros de las membranas está asociada a la aparición de resistencias a las quinolonas aunque parece que estas reducciones son insuficientes para lograr una disminución en la concentración intracelular del fármaco de forma que puedan aparecer fenómenos de resistencia.

La ausencia de mutación por genes transportados por plásmidos hace que las resistencias a las quinolonas sean menores que las aparecidas con otros antimicrobianos.

Las resistencias más frecuentes han aparecido en procesos clínicos provocados por *Pseudomona aeruginosa* y *Staphilococcus aureus* en heridas infectadas y en infecciones pulmonares.

Recientemente se ha descrito un gen (qnr) mediador de la resistencia a las quinolonas aislado en *Klebsiella pneumoniae* y en *E. coli* localizado cerca de secuencias asociados con la clase I de integrones, que actúa protegiendo la ADN-girasa. El gen provoca una disminución de la susceptibilidad a las bacterias que lo poseen (Marin Carrillo, P., 2008).

La frecuencia de generación espontánea de resistencias bacterianas a la enrofloxacin es extraordinariamente baja, aunque algunos autores señalan que el aumento de la resistencia puede provenir del uso de compuestos quinolónicos, en particular de la enrofloxacin.

La enrofloxacin fue aceptada por la FDA en aves en 1999 para su uso clínico. Esta aprobación requirió casi dos décadas debido a la posibilidad de que las cepas bacterianas resistentes pudieran pasar a los consumidores (de Lucas y col., 2008c).

Prevención de resistencias

Las fluoroquinolonas, en general, han sido recientemente reclasificadas en Europa, teniendo en consideración, no sólo el paradigma de Dosis Concentración Dependiente (Walker y Dowling, 2006), sino también el concepto de Concentraciones Preventivas de Mutaciones (MPC), que se define como la concentración más baja de un fármaco capaz de prevenir el crecimiento de las cepas mutantes resistentes, de primer paso, menos susceptibles.

La resistencia a las fluoroquinolonas se puede producir de forma espontánea en poblaciones de bacterias con una frecuencia de 10^6 a 10^8 después de un proceso gradual, que implica mutaciones en el gen que codifica las dianas terapéuticas, como son la ADN-girasa y la topoisomerasa IV (Kesteman y col., 2009; Wetzstein H.G., 2005).

El uso de los índices farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD), se considera necesario para optimizar las estrategias de tratamiento y reducir el desarrollo de resistencias bacterianas (McKellar y col., 2004, Toutain y Lees, 2004, Lathers, C.M., 2002). En este sentido, se ha propuesto un nuevo enfoque en la prevención de la aparición de resistencia a los antimicrobianos, que consiste en la administración del fármaco a dosis que consigan unas concentraciones plasmáticas que superen en todo momento el umbral que presentan las cepas mutantes espontáneas, resistentes a los medicamentos y evitar así el crecimiento y amplificación selectiva de cualquier subpoblación mutante.

Además, se ha sugerido que la amplificación selectiva de las cepas mutantes espontáneas resistentes a los fármacos, es más pronunciada en el intervalo de concentraciones plasmáticas de dicho fármaco entre la MIC para la población de campo (silvestre) y la MPC. Este intervalo se define como la ventana de selección de mutantes (MSW) (Kesteman y col., 2009).

Por otro lado, el parámetro MIC se relaciona con las poblaciones sensibles a los medicamentos y no es adecuado para la prevención del crecimiento de mutantes resistentes. Teóricamente, para prevenir el desarrollo de mutantes resistentes, las concentraciones del antimicrobiano deben superar durante el mayor tiempo posible las MPC (Pasquali y Manfreda 2007), y este hecho no se tiene en consideración con los índices de eficacia clásicos AUC/MIC o C_{max}/MIC , o el aplicado en antimicrobianos tiempo dependiente $T > MIC$. Por ello, algunos autores han sugerido nuevos índices de eficacia, $T > MPC$ (tiempo en el que las concentraciones del fármaco superan las MPC) y AUC/MPC, que podrían ser buenos predictores para la prevención de la aparición de resistencias (Olofsson y col., 2006, Olofsson y col., 2007), y recientemente Kesteman y col., (2009) han propuesto un nuevo índice $T_{>MPC}/T_{MSW}$.

Por tanto, la situación ideal o más deseable cuando se lleva a cabo un tratamiento antimicrobiano eficaz y que a su vez no promueva el incremento de resistencias, es que se instaure la terapia lo antes posible, de forma que el tamaño del inóculo o carga bacteriana en el animal sea la menor posible (metafilaxis o profilaxis) (Kesteman y col., 2009), y si esto no ha sido posible, conseguir unos niveles plasmáticos y tisulares por encima de la ventana de selección de mutantes.

I.3.9.- Interacciones

Las quinolonas pueden sufrir o provocar interacciones en la farmacocinética o alterar el comportamiento dinámico por interferir en la unión a receptores.

I.3.9.1.- Interacciones farmacocinéticas

Absorción

Según Fish, D.N., (2001) se ha demostrado que tras la administración de fluoroquinolonas la absorción oral decrece drásticamente con antiácidos que contienen magnesio y aluminio, igualmente ocurre con el sucralfato, suplementos minerales y alimentos que contienen cationes multivalentes como aluminio, magnesio, calcio y zinc, ya que estos cationes disminuyen la cantidad de fármaco disponible que ingresa en las bacterias, al mismo tiempo que disminuyen la absorción gastrointestinal. La ranitidina no decrece la absorción de ciprofloxacina pero si disminuye la biodisponibilidad de la enofloxacina y sugiere que el pH gástrico afecta a la absorción oral (ver aparados I.3.3 y I.3.5.1.1).

Metabolismo

Vancutsem y Babish, (1996) demostraron que la enrofloxacin, a niveles terapéuticos, causa inhibición de las enzimas hepáticas P450, CYP 1A1 y 1A2. Por ello deben tomarse precauciones cuando se administra en forma conjunta con fármacos que utilizan este sistema enzimático, tales como fenacetina, fenitoína, fenotiazinas, cafeína opiáceos y warfarina o digoxina (Novotny y Shaw, 1991).

Marin Carrillo, P. (2008), a su vez, describe interacciones de ciprofloxacina con teofilina por el mismo mecanismo.

Por otra parte, la enrofloxacin incrementa el contenido y estimula la actividad de la P450 CYP 2B, pero en forma leve a niveles terapéuticos, de modo que no debería afectar el metabolismo de otros compuestos metabolizados por la isoforma CYP 2B, tales como el fenobarbital (Vancutsem y Babish., 1996), si bien este mismo autor había descrito previamente el incremento en la frecuencia e intensidad de ataques en perros epilépticos bajo tratamiento de fenobarbital (Vancutsem y col., 1990). En el mismo sentido Shlosberg, A., (1997) comprobó la inhibición del citocromo P450, en hígado de pollos, por la enrofloxacin a dosis terapéuticas.

En sentido inverso, los inductores enzimáticos pueden incrementar el metabolismo de las fluoroquinolonas como sucede con la rifampicina que aumenta el metabolismo de la grepafloxacin (Fish, D.N., 2001)

Excreción

Por su parte la ciprofloxacina (administrada durante 8-10 días) prolonga la semivida de eliminación de la antipirina desde 9,45 horas a 14,9 horas y esto se atribuye a un descenso del aclaramiento de 0,85 a 0,52 ml/kg•min en humanos. Ciprofloxacina y norfloxacina disminuyen el aclaramiento e incrementan la concentración plasmática de la ciclosporina (Fish, D.N., 2001).

La furosemina disminuye el aclaramiento renal de la lomefloxacina posiblemente por la disminución de la secreción tubular. Esto mismo ocurre con probenecid que disminuye el aclaramiento renal de la fluoroquinolonas.

I.3.9.2.- Interacciones farmacodinámicas

La administración conjunta de AINEs como el fenbufén con enoxacín ha dado lugar en pacientes humanos a convulsiones, por mecanismo de inhibición competitiva con receptores del GABA hecho que no ha sido demostrado con otras fluoroquinolonas (Wolfson y Hopper, 1991; Brown, S.A., 1996).

También han aparecido interacciones entre levofloxacina y zidovudina y otros retrovirales.

Pirazinamida y cicloeserina interactúan con ofloxacina provocando menor tolerancia de la primera e incrementando la toxicidad de la segunda a nivel del SNC.

Poco estudiado y con controversia, es la relación de las fluoroquinolonas con otros tratamientos antimicrobianos frente a micobacterias.

I.3.10.- Toxicidad

I.3.10.1.- Relación estructura-efectos adversos

Todas las sustituciones, además de influir en la actividad antimicrobiana, influyen en las propiedades farmacocinéticas y en los efectos adversos. Algunas son propias del grupo y otras específicas en relación a la estructura química de cada quinolona.

En general las quinolonas son fármacos muy seguros cuyos efectos secundarios más frecuentes son leves. Las alteraciones digestivas y la artropatía no parecen tener relación con las modificaciones químicas, sin embargo la cristaluria, las alteraciones neurológicas y la fototoxicidad, si están muy relacionadas con estas modificaciones.

Los radicales unidos al nitrógeno en la posición 1 van a influir en la interacción con las xantinas y en la genotoxicidad de las quinolonas. Los radicales pequeños y lineales aumentan la interacción con las xantinas y el fluoroetilo la disminuye. La presencia del ciclopropilo implica moléculas con mayor toxicidad, seguida de las que presentan un terbutilo o un grupo etilo (Gutiérrez-Zufiaurre, N., 2004).

No se han descrito efectos secundarios relacionados con el radical en posición 2 ni con el flúor en la posición 6. La presencia de ácido carboxílico en C₃ y del grupo oxo en posición 4 influye en el hecho de que las quinolonas quelan algunos cationes como Ca²⁺, Mg²⁺ y Fe²⁺ y por tanto tienden a disminuir su absorción oral pudiendo provocar el fracaso del tratamiento.

Los diferentes radicales en C₅ van a afectar en la inducción de la fototoxicidad y genotoxicidad. La fototoxicidad se produce por un fenómeno dependiente del oxígeno de forma que cuando la quinolona se excita con la luz ultravioleta, puede liberar radicales libres tóxicos. Los grupos metilo, seguidos de un hidrogeno y de un grupo amino aumentan la fototoxicidad.

La acción directa sobre el SNC se debe a una interferencia con los receptores GABA y la acción indirecta se debe a la interacción con otros fármacos. Todos los efectos producidos a este nivel están relacionados con la unión de las fluoroquinolonas por el radical C₇ a los receptores gabaérgicos cerebrales, bloqueando así la unión del GABA. Las quinolonas que más antagonizan con el GABA son las que presentan moléculas de menor tamaño en C₇ (ciprofloxacino, norfloxacino). Las quinolonas con radicales más voluminosos tienen menor antagonismo con el GABA, aunque este efecto depende también de la penetración en tejido nervioso y probablemente esté ligado al grado de lipofilia o lipofobia de los distintos radicales. Las alteraciones dermatológicas se relacionan con la presencia de un grupo alquilo en el anillo piperacínil, lo que sugiere que el causante más directo de este efecto es el sustituyente en C₇. También se relaciona con este, la interacción con algunos antiinflamatorios no esteroideos y sus

metabolitos. Con ciertas quinolonas esta interacción puede aumentar de 100 a 300 veces. La presencia de un anillo piperacínico (ciprofloxacino, enofloxacino y norfloxacino) muestran mayor interacción con los antiinflamatorios no esteroideos. (Gutiérrez-Zufiaurre, N., 2004).

I.3.10.2.- Efectos adversos

Los efectos adversos clínicamente estudiados se deben a dos tipos de situaciones: tratamiento-emergente y fármaco-relación, que son los más estudiados.

Si bien las fluoroquinolonas son bien consideradas por la baja incidencia de toxicidad y efectos adversos (Sharma y col., 2009), se ha descrito en medicina humana que tras la administración oral, las fluoroquinolonas presentaron una frecuencia de 3-40 %, de reacciones adversas (Fish, D.N., 2001).

Gastro-intestinal

Los efectos adversos a nivel gastrointestinal no parecen deberse a los cambios estructurales en el núcleo de las fluoroquinolonas sino más bien a la combinación directa de la irritación y los efectos mediados a nivel del SNC. Es frecuente la aparición de náuseas, dispepsia, dolor abdominal, vómitos y diarreas. A nivel de la flora gastrointestinal anaerobia las alteraciones producidas por las fluoroquinolonas son mínimas.

SNC

A altas dosis a nivel del SNC pueden producir insomnio o somnolencia y depresión según Neu y col., (1988) debido a su relación con la histamina que a su vez puede provocar eritema, urticaria y reacciones de hipersensibilidad. Tras la administración intravenosa rápida de norfloxacina, se han descrito convulsiones, defecación, micción sin control y emesis a los 2-3 minutos de dicha administración. Según Akahane y col., en 1989, los signos epileptógenos están relacionados con el GABA, y Vancutsem y col., en 1990, describieron de forma anecdótica un incremento en la frecuencia y la intensidad de estos síntomas en perros.

Renal

Debido a la baja estabilidad de las fluoroquinolonas en orina ácida, puede aparecer hematuria, nefritis intersticial y fallo renal además de cristaluria en animales que no estén correctamente hidratados (McKellar, Q.A., 1996).

Epidérmico

En pacientes humanos con una mayor exposición a los rayos UV aparecen fenómenos de fototoxicidad, debido bien a la inducción de radicales libres de oxígeno que pudieran atacar la membrana lipídica de las células produciendo una peroxidación lipídica y con ello un proceso inflamatorio dando lugar a eritema y

erupciones severas o bien debido a reacciones inmunomediadas. A nivel hepático hay elevación de la alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa y fosfatasa alcalina y bilirrubina, aumento reversible que desaparece al finalizar el tratamiento. La más problemática ha sido la travofloxacin que puede producir prostatitis en tratamientos largos.

Ocular

Se han descrito también procesos de opacidad lenticular, cambios morfológicos en la retina y alteración visual.

Músculo esquelético

Las artropatías han sido los procesos más estudiados. En pacientes jóvenes se producen artropatías (por inhibición de la síntesis de colágeno y glicosaminoglicanos producido por procesos de oxidación, inhibición de la síntesis de ADN condrocito, disfunción de las mitocondrias de los condrocitos y quelación de iones magnesio), artralgias y artritis. También se observaron procesos de artropatía erosiva no inflamatoria en animales jóvenes tratados durante largos periodos con fluoroquinolonas por la formación de vesículas a nivel del cartílago articular debido a la inmadurez de los procesos metabólicos de oxidación de los condrocitos. En humana y aves se ha demostrado la tendinitis y rotura del tendón de Aquiles en adultos que además están siendo tratados con corticosteroides.

Cardiovascular

En perros, tras la administración de esparfloxacin se observa alargamiento del segmento QT y con moxifloxacin y gatifloxacin prolongación de la repolarización cardíaca (Marín Carrillo, P., 2008). También se ha observado taquicardia ventricular reversible, hipotensión, síncope, migrañas y edemas.

En humana se ha observado anemia, metahemoglobinemia, leucopenia, granulocitopenia, descenso o aumento del tiempo de protrombina y descenso a aumento plaquetario. Según Sepcic y col., (2009) las fluoroquinolonas en estos pacientes pueden causar efectos adversos en el sistema inmunitario. También Fish, D.N., (2001) indica que en humana pueden aparecer reacciones de hipersensibilidad causadas bien por reacciones alérgicas o como consecuencia de la liberación de histamina y reacciones anafilácticas tras la administración de ciprofoxacin y temafloxacin intravenosas.

I.3.10.3.- Efectos adversos de la marbofloxacin

En ratas tras la administración de elevadas dosis apareció disminución de la actividad, temblores, convulsiones y uropatía obstructiva. Dosis de entre 50 y 600 mg/kg durante 6 semanas dieron lugar a disminución testicular, oligospermia y atrofia tubular testicular. También se produjeron artropatías, que fueron halladas en perros tras la administración de 40 mg/kg de peso corporal durante 13 semanas. No

se observaron problemas de teratogenicidad. Tras la administración de 700 mg/kg apareció toxicidad tanto para el feto como para la gestante.

La marbofloxacinina no ha demostrado potencial epileptogénico tras la administración conjunta con ácido tolfenámico, incluso a dosis de hasta 10 veces las recomendadas (Bousquet-Melou y col., 1997). A su vez, la administración conjunta de marbofloxacinina a una dosis de 2 mg/kg y ketamina (durante una anestesia con ketamina y medetomidina) no produjo un aumento en el riesgo de episodios convulsivos (Bousquet-Melou y col., 2000).

A dosis alta puede provocar convulsiones. También irritación en la piel y ojos (EMA/MRL/079/96-FINAL, 1996; EMA/MRL/693/99-FINAL, 1999). En ratas, 600 mg/kg producen obstrucción urinaria, alteraciones en la reproducción, atrofia testicular, oligospermia y granuloma espermático, así como artropatías. En perros esto mismo se produce con dosis más bajas.

I.3.10.4.- Efectos adversos de la enrofloxacinina

En ratas tras la administración de 750 mg/kg de peso corporal durante 13 semanas se observó disminución del peso corporal y artropatías. En machos, alteraciones en células del epidídimo y túbulos seminíferos con degeneración espermática, efectos que pueden revertir tras el cese de la administración.

En animales jóvenes aparecieron artropatías. Se demostró que la enrofloxacinina no produce hiperplasia biliar ni neoplasias endocárdicas.

Los estudios de toxicidad aguda realizados con la molécula de enrofloxacinina sobre diferentes especies animales, coinciden en señalar la aparición de efectos tóxicos sólo tras la administración de dosis muy superiores a las terapéuticas. La DL₅₀ (oral en rata) es superior a 5000 mg/kg.

Sin embargo, no se recomienda el uso de enrofloxacinina en potros por ocasionar artropatía y defectos en cartílagos (Vancutsem y col., 1990; Langston y col., 1996), como tampoco en gatos y perros menores de 8 meses y 1 año respectivamente (McKellar, Q.A., 1996). El efecto de la enrofloxacinina sobre cultivo de células de tendones de caballos adultos y jóvenes fue investigado por Yoon y col., en 2004. Demostraron que la enrofloxacinina inhibe la proliferación celular provocando cambios morfológicos, disminución del contenido total de monosacáridos y alteración de la síntesis de proteoglicanos. Estos procesos son más pronunciados en animales jóvenes que en adultos.

La enrofloxacinina es muy irritante cuando se administra por la vía intramuscular, ocasionando un marcado aumento de la creatinquinasa en suero e inflamación y dolor en el sitio de inyección en algunos casos (Kartinen y col., 1997a; Pyörälä, S., 1994).

A partir de ensayos en linfocitos humanos se ha informado un posible efecto genotóxico de la enrofloxacin (Gorla y col., 1999).

En estudios realizados por Harrison y col., (2006) demostraron que tras la administración de 2,4 mg/kg/24 horas de enrofloxacin intramuscular durante 14 días, en guanacos, aparecía atrofia retinal igual que la producida en gatos.

I.3.10.5.- Evaluación medioambiental

Las fluoroquinolonas se unen fuertemente al suelo y presentan baja movilidad. Hay que destacar que la unión es mucho más fuerte con la materia orgánica del suelo y también del estiércol que con los componentes minerales. La adsorción reduce la potencia antimicrobiana de estos compuestos al disminuir su biodisponibilidad. Golet y col., en 2003 indican que la ciprofloxacina y la norfloxacina aplicadas en suelos agrícolas a una concentración de 50-200 g/ha (10 veces superior de la permitida en Suiza) se concentra en la zona superior del suelo, observando concentraciones por debajo del límite de cuantificación (0,18 mg/kg) en el subsuelo a los 5-21 meses. Nowara y col., en 1997, indican que las fluoroquinolonas se adsorben fuertemente a los suelos con alto contenido en minerales arcillosos a través de interacciones electrostáticas. Los resultados indican que se adsorbe el 95,5-99,7 % de la enrofloxacin con una desorción muy lenta. Esta propiedad es más débil en las fluoroquinolonas que carecen de grupo carboxílico. Esto parece ser debido a que la adsorción de estas moléculas a los suelos previene la lixiviación hacia las aguas subterráneas o superficiales. Migliore y col., en 2003 estudiaron la fitotoxicidad de la enrofloxacin sobre varias plantas de cultivo empleando tres concentraciones (50, 100 y 5000 µg/L durante 10, 20 y 30 días de exposición e indicaron que los efectos adversos aparecen a los 100 µg/L.

I.3.11.- Indicaciones clínicas

Las fluoroquinolonas poseen un gran valor en la práctica clínica debido a que presentan un amplio espectro bactericida, un buen comportamiento farmacocinético que posibilita su administración diaria, una buena absorción en el tracto gastrointestinal en las especies monocavitarias y los prerrumiantes, una excelente distribución tisular y una baja incidencia en reacciones adversas.

Las fluoroquinolonas alcanzan altas concentraciones en orina durante periodos de tiempo prolongados presentando una excelente actividad contra la mayoría de los patógenos que se aíslan en las infecciones del tracto urinario. Sin embargo hay que tener en cuenta que la actividad antibacteriana de las quinolonas se ve reducida por valores de pH urinario bajos. Aún estando afectada la función renal, las concentraciones urinarias de las fluoroquinolonas son, en general, suficientes para ser terapéuticamente efectivas.

Por su alta penetración en el tejido prostático, resultan eficaces en el tratamiento de prostatitis crónicas y agudas originadas por microorganismos gram-negativos (Andriole, V.T., 1988; Fitton, A., 1992).

En tejido bronquial, esputo y secreciones sinusales también alcanzan concentraciones altas, incluso tras la administración oral y poseen una excelente actividad *in vitro* contra la mayoría de los patógenos respiratorios más importantes.

Las fluoroquinolonas son activas contra los microorganismos causantes de la mayoría de las patologías infecciosas de la piel (Ihrke y col., 1999).

En la mucosa intestinal, dentro de los macrófagos y en la luz del tracto gastrointestinal cuando son administradas por vía oral (Andriole, V.T., 1988), también aparecen concentraciones efectivas, por lo que son utilizadas en el tratamiento de las diarreas bacterianas agudas (Fitton, A., 1992).

La buena difusión de las fluoroquinolonas en el tejido mamario inflamado y las altas concentraciones que se alcanzan en leche tras la administración parenteral (Walser y col., 1993; Kaartinen y col., 1995; Aramayona y col., 1996; Shem-Tov y col., 1997a, 1997b; el-Banna y Abo el-Sooud, 1998; Gips y Soback, 1999) justifican el tratamiento sistémico de las mastitis (Sumano, H., 1993).

También las fluoroquinolonas presentan buenas propiedades farmacológicas en la prevención de las infecciones quirúrgicas, ya que poseen una prolongada semivida de eliminación, una amplia distribución tisular y un amplio espectro. Se han utilizado con éxito en el tratamiento de osteomielitis, alcanzando tasas de cura del 70 % en administraciones prolongadas (≥ 4 semanas).

Tabla 20.- Quinolonas autorizadas para su uso en animales agrupadas por regiones geográficas (Hassouan, M.K., 2006).

PAÍS	GRANDES ANIMALES	AVES	PEQUEÑOS ANIMALES	PECES
Europa	enrofloxacin flumequina marbofloxacin danofloxacin	enrofloxacin difloxacin flumequina ac. oxolínico	enrofloxacin, difloxacin, marbofloxacin	sarafloxacin ac. oxolínico *
USA	ninguna	enrofloxacin sarafloxacin	enrofloxacin, difloxacin, orbifloxacin	ninguna
Japón	enrofloxacin difloxacin orbifloxacin danofloxacin ac. oxolínico	enrofloxacin vebufloxacin orbifloxacin danofloxacin ac. oxolínico	enrofloxacin, orbifloxacin	ac. oxolínico

(Continúa en la página siguiente)

PAÍS	GRANDES ANIMALES	AVES	PEQUEÑOS ANIMALES	PECES
Asia	enrofloxacin danofloxacin ciprofloxacina	enrofloxacin ciprofloxacina danofloxacin ofloxacin flumequina norfloxacina ac. oxolínico sarafloxacin*	enrofloxacin	oxolínico, enrofloxacin flumequina
Sudamérica	enrofloxacin ciprofloxacina, danofloxacin norfloxacina flumequina*	enrofloxacin ciprofloxacina danofloxacin norfloxacina flumequina* ac. oxolínico *	enrofloxacin	oxolínico
Canadá		enrofloxacin (retirada en 1998)	enrofloxacin	
Australia	ninguna	ninguna	enrofloxacin	ninguna
Sudáfrica	enrofloxacin danofloxacin	enrofloxacin, danofloxacin, norfloxacina	enrofloxacin	

*Uso restringido

I.3.11.1.- Usos clínicos de la marbofloxacina

La marbofloxacina está aprobada, en España, para uso en bovinos, porcinos, caninos y felinos. Está indicada para procesos respiratorios, mastitis y diarreas neonatales en bovinos, síndrome mastitis-metritis-agalaxia e infecciones respiratorias en porcinos, infecciones dérmicas y de tejidos blandos, heridas infectadas, infecciones del tracto respiratorio y prevención de infecciones quirúrgicas en felinos y caninos. En esta última especie también está aprobado su uso en infecciones urinarias. En perros, gatos, cerdos y vacas la marbofloxacina no ha demostrado buena eficacia clínica en el tratamiento de las afecciones respiratorias provocadas por estreptococos (Marbofloxacin Reference Book, 1999).

Como la marbofloxacina se elimina por vía renal en la forma activa, es útil para el tratamiento de infecciones urinarias; además, debido a la liposolubilidad de la molécula, la marbofloxacina penetra fácilmente las barreras y difunde hacia los tejidos, por lo que es adecuada para el tratamiento de prostatitis (Cotard y col., 1995).

La eficacia de la marbofloxacina en el tratamiento de las afecciones dermatológicas en caninos (intértrigo, impétigo, foliculitis, forunculosis, celulitis, pioderma interdigital o pioderma profunda) es muy elevada. En los últimos años se ha estudiado también dicha eficacia en el tratamiento de la leishmaniosis visceral canina. Vouldoukis y col., en 2006, estudiaron el comportamiento *in vitro* de la marbofloxacina, ya que parece que *Leishmania infantum* posee una topoisomerasa

I de características similares a las topoisomerasas II y IV de los microorganismos y que podrían actuar sobre la vacuola parasitófora formada tras la infección a través de la ruta del óxido nitroso y de la liberación de enzimas liposomales. Dicho trabajo se realizó *in vivo* demostrando que los animales tratados con 2 mg/kg de marbofloxacin a vía oral durante 28 días presentaban a los tres meses una significativa reducción del número de amastigotes sin observarse efectos adversos que son problemáticos en el tratamiento de dicha enfermedad con los fármacos que se utilizan en la actualidad. También Rougier y col., en 2008 realizaron estudios similares manteniendo el tratamiento durante 10, 20, 28 y 40 días, concluyendo que el tratamiento durante 28 días es el más aconsejable.

El uso de la marbofloxacin a para prevenir las infecciones quirúrgicas ha sido ensayado, resultando ser de utilidad (Gruet y col., 1997). Además, el margen de seguridad de la administración intravenosa de 2 mg/kg permite utilizar este fármaco en animales anestesiados (Lefebvre y col., 2000).

I.3.11.2.- Usos clínicos de la enrofloxacin a

La enrofloxacin a está aprobada en España para cerdos, bovinos, perros, gatos, lagomorfos, aves de corral y psitácidas. Ha demostrado su eficacia en el tratamiento de infecciones respiratorias, enteritis bacterianas, infecciones urinarias, infecciones de la piel, heridas y otitis. En cerdos y vacas se utiliza frente enteritis bacterianas y colibacilosis, síndrome mastitis-metritis-agalaxia (cerdos) y pasteurelisis (vacas). En roedores está indicada para enteritis bacterianas, igual que en lagomorfos, donde también se usa para infecciones de piel y mucosa bucal y heridas. Para los mismos trastornos se recomienda en psitácidas de peso superior a 400 g. Se ha utilizado con éxito en équidos y animales exóticos (roedores reptiles, quelonios, iguanas y serpientes).

Los estudios clínicos realizados con enrofloxacin a en terneros demuestran que es efectiva en las diarreas y septicemias (Vancutsem y col., 1990). Los cultivos fecales de terneros portadores de *Salmonella* resultaron negativos a los 5 y 12 días después del tratamiento con enrofloxacin a (Brown, S.A., 1996).

En porcinos, este fármaco elimina el estado de portador de *Salmonella* con una dosis oral de 200 ppm en el alimento durante 10 días (Brown, S.A., 1996) y ha demostrado ser igualmente eficaz que la oxitetraciclina contra *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Pijpers y col., 1994). En esta misma especie se ha comprobado la eficacia en enterotoxemias producidas por coliformes y bronconeumonías por *Mycoplasma hyopneumoniae*, y pleuroneumonías (Vancutsem y col., 1990).

En aves se han realizado estudios de campo con enrofloxacin a en colibacilosis aviar y otras enfermedades por bacterias y micobacterias en aves de corral que indican que una dosis de 1,25 mg/kg/día durante 3 a 5 días resulta efectiva (Jordan y col., 1993; Brown, S.A., 1996). Administrada en el agua de bebida de estas especies es útil para tratamientos, profilácticos y terapéuticos, de infecciones causadas por *Mycoplasma gallisepticum*, *Escherichia coli*, *Salmonella*

typhimurium, *Salmonella arizonae*, *Salmonella pullorum* y *Haemophilus paragallinarum* (Vancutsem y col., 1990). Dorrestein, G.M., (1992) ha demostrado la eficacia de la enrofloxacin en el tratamiento de infecciones de alta incidencia en aves y especies exóticas.

En perros y gatos en el tratamiento de las piodermas, tanto superficiales como profundas, la enrofloxacin ha demostrado asociar a su actividad antibacteriana, una actividad antiinflamatoria caracterizada por la disminuci3n de la producci3n del factor de necrosis tumoral y una disminuci3n de la producci3n de leucotrienos inducida por neutr3filos, linfocitos, monocitos y bas3filos.

Su utilizaci3n ha sido tambi3n evaluada en las infecciones causadas por micoplasmas y micobacterias con resultados variables, en las infecciones por rickettsias, donde la enrofloxacin presenta una actividad an3loga a la doxiciclina o el cloranfenicol, en la bartonellosis del gato con resultados desiguales y en la ehrlichiosis canina, como alternativa a la doxiciclina, donde la enrofloxacin produce resultados satisfactorios en el control de la infecci3n aguda, no tanto en su forma cr3nica. Tambi3n en el tratamiento de otitis externa y heridas infectadas experimentalmente con *Klebsiella spp.* en caninos (Vancutsem y col., 1990).

La enrofloxacin ha sido utilizada con 3xito en el tratamiento de neumon3as y pleuroneumon3as, endometritis y en general en diferentes tipos de infecciones articulares y ortop3dicas en los caballos, donde adem3s presenta la ventaja adicional de que es quiz3s junto con las sulfamidas, los 3nicos antimicrobianos que pueden ser administrados con eficacia y seguridad por v3a oral, al absorberse adecuadamente y no producir alteraciones aparentes en su flora intestinal.

Tambi3n se ha utilizado en peces en el ba3o, dada su estabilidad en el agua, permitiendo tanto el tratamiento de infecciones externas como el tratamiento de infecciones sist3micas, debido a la alta tasa de absorci3n a trav3s de la superficie de las agallas. En este caso se ha documentado la inocuidad y la eficacia de la enrofloxacin, en un intervalo de concentraciones entre 2.5 y 5 mg por litro, en ba3os de 5 horas de duraci3n repetidos cada 24 horas.

Igual que la marbofloxacin, tambi3n se ha estudiado el uso de la enrofloxacin para el tratamiento de leishmaniosis canina. Vouldoukis y col., en 2006 indican que a pesar de que estudios anteriores demuestran que no tiene acci3n leishmanicida, *in vitro* se observa un aumento en la muerte de macr3fagos infectados. Rougier y col., en 2008 indican que tras el tratamiento con una dosis de 20 mg/kg durante 30 d3as se observ3 mejor3a cl3nica en los s3ntomas dermatol3gicos, pero existe una recidiva a los 60-90 post-tratamiento del 50 %.

II. Justificación y objetivos

El aprovechamiento de los recursos naturales de una determinada región es uno de los desafíos que se presentan hoy en día en las sociedades en desarrollo. Pero en la actualidad no es posible separar el concepto de producción agro-ganadera con el respeto al medio ambiente y el mantenimiento de la biodiversidad. Este binomio se puede resolver mediante el establecimiento de programas de desarrollo sostenible que compaginen los dos conceptos anteriores.

Argentina es reconocida por su sistema extensivo de producción de bovino, que requiere amplias extensiones de tierra y a su vez una gran riqueza productiva, premisas que se cumplen en la denominada pampa húmeda. Sin embargo alrededor de un 61% de su superficie (el monte occidental, los altiplanos del noroeste, las tierras centrales, la pampa semiárida y la meseta patagónica) se halla bajo condiciones de aridez y problemas de suelos, con sistemas agropecuarios deficientes, que no permiten este tipo de explotación. Por ello se plantea la necesidad de incorporar una ganadería acorde con ese tipo de terreno y que además mantenga las características medioambientales de la región dentro del concepto de desarrollo sostenible. Entre las especies domésticas disponibles que podrían llegar a adaptarse a las condiciones ambientales figuran los camélidos sudamericanos domésticos (CSA).

La explotación comercial de una especie animal facilita la aparición de patologías bacterianas, nutricionales y parasitarias que en ocasiones producen importantes pérdidas económicas y pueden transmitir estos procesos infecciosos o parasitarios a su entorno (hombres y fauna silvestre).

Para controlar las infecciones de más frecuente aparición en las explotaciones ganaderas, se dispone de herramientas eficaces como son las fluoroquinolonas. Concretamente la marbofloxacina y la enrofloxacina son dos antimicrobianos sintéticos de uso exclusivo veterinario, que han mostrado actividad frente a gram-negativos, algunos gram-positivos y micoplasmas (Walker y Dowling, 2006). No obstante la ausencia de estudios farmacocinéticos en los CSA obliga al clínico a establecer pautas terapéuticas fuera de prospecto -uso *extra label*-, mediante extrapolación empírica o alométrica a partir de otras especies domésticas. La infradosificación aumenta la probabilidad de aparición de resistencias bacterianas, con riesgo de transmisión horizontal y zoonosis. Por su parte la sobredosisificación puede provocar incremento de la toxicidad (convulsiones, alteraciones articulares, o pérdida de eficacia por el efecto "eagle"). Si se tiene en cuenta que las fluoroquinolonas presentan un efecto bactericida concentración-dependiente, es posible predecir la eficacia potencial de una terapia con marbofloxacina o enrofloxacina mediante el estudio de los indicadores de eficacia antibacteriana.

Por otra parte la ausencia de datos cinéticos no permite establecer los tiempos de aclaramiento farmacológico, ni por tanto el periodo de supresión previo al sacrificio, lo que aumenta el riesgo de presencia de residuos en los productos de

consumo y una falta de control sobre el impacto medioambiental de las excretas procedentes de los animales tratados.

La terapia antimicrobiana necesita de un uso racional de los fármacos para disminuir en lo posible los errores en la elección del medicamento o en su dosificación ya que estos pueden ser la causa de un fracaso terapéutico, de la aparición de efectos secundarios (tóxicos, residuos en alimentos y medioambiente) o de emergencia de resistencias bacterianas. Esto exige un amplio conocimiento de las características farmacológicas de cada compuesto y del comportamiento cinético de los antimicrobianos en las distintas especie animales, ya que se han demostrado diferencias en diversos fármacos, y concretamente las fluoroquinolonas, en los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción, en diferentes especies e incluso dentro de la misma especie en diferentes edades o estados fisiopatológicos.

Actualmente hay numerosos estudios sobre el comportamiento cinético y las características farmacológicas de ciertas fluoroquinolonas en animales de compañía o en especies de producción “clásica” Sin embargo no sucede lo mismo en especies de producción alternativa, donde la información a este respecto se puede considerar escasa obligando al clínico a utilizar el procedimiento de cascada y fuera de prospecto para poder atender las patologías emergentes como consecuencia de la explotación de estas especies.

En nuestro trabajo proponemos profundizar en el conocimiento farmacocinético de la llama, una especie que día a día, va tomando mayor importancia, tanto a nivel de producción por su alta capacidad de adaptación en regiones de características adversas, como por su empleo como animal doméstico (*caddie* o animal de carga).

El objetivo general de este trabajo es conocer el comportamiento farmacocinético de la marbofloxacina y de la enrofloxacina en esta especie, para poder establecer pautas posológicas adecuadas que permitan un uso racional de estos antimicrobianos, sin necesidad de extrapolaciones que conlleven riesgos asociados.

Para lograrlo se establecieron los siguientes objetivos específicos:

- Conocer el comportamiento farmacocinético de la marbofloxacina tras la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea en dosis única.
- Conocer el comportamiento farmacocinético de la marbofloxacina tras administración subcutánea en dosis múltiple (5).
- Conocer el comportamiento farmacocinético de la enrofloxacina tras la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea en dosis única.

- Conocer el comportamiento farmacocinético de la enrofloxacin a tras administración subcutánea en dosis múltiple (9).
- Conocer el comportamiento farmacocinético de la enrofloxacin a en una presentación inyectable de acción retardada (LA) por vía subcutánea en dosis única y dosis múltiple (2).
- Proponer regímenes de dosificación adecuados para esta especie en función de los resultados obtenidos en los apartados anteriores.

III. Material y métodos

III.1.- Material

III.1.1.- Animales

El estudio se realizó sobre (16 hembras y 2 machos), sanas, adultas, de raza Chaku, de entre 1.5 y 6 años de edad, con un peso medio de $146,8 \pm 25,38$ kg (media \pm DE).

Tabla 22.- Animales.

ANIMAL	IDENTIFICACIÓN (caravana)	SEXO	EDAD (años)	PESO (kg)	FÁRMACO	VÍA de administración
1	74	H	3	98	MFX	IV, IM, Scdu, SCdm
2	75	H	3	144	MFX	IV, IM, Scdu, SCdm
3	78	H	5	110	MFX	IV, IM, Scdu, SCdm
4	91	H	4	122	MFX	IV, IM, Scdu, SCdm
5	95	H	6	169	MFX	IV, IM, Scdu, SCdm
6	M	M	1.5	99	MFX	IV, IM, Scdu, SCdm
7	71	H	3	155	EFX	IV, IM, Scdu, SCdm
8	76	H	5	155	EFX	IV, IM, Scdu, SCdm
9	93	H	4	165	EFX	IV, IM, Scdu, SCdm
10	94	H	3	155	EFX	IV, IM, Scdu, SCdm
11	97	H	5.5	152	EFX	IV, IM, Scdu, SCdm
12	98	H	6	185	EFX	IV, IM, Scdu, SCdm
13	004	H	6	144	EFX LA	SCdu, SCdm
14	005	H	5.5	150	EFX LA	SCdu, SCdm
15	006	H	4	156	EFX LA	SCdu, SCdm
16	007	H	4	181	EFX LA	SCdu, SCdm
17	009	H	5	167	EFX LA	SCdu, SCdm
18	013	M	5.5	136	EFX LA	SCdu, SCdm

III.1.2.- Fármacos utilizados

Se utilizaron dos fluoroquinolonas con características diferentes para su estudio, marbofloxacina y enrofloxacina (y su metabolito ciprofloxacina), y además, ofloxacina, como patrón interno.

Marbofloxacina: la sustancia patrón fue suministrada por el laboratorio de especialidades veterinarias Vetoquinol (Lure, Francia), lote 111739. La especialidad farmacéutica utilizada para las pruebas fue Marbocyl® 10% solución inyectable (Vetoquinol, lote 61024).

Enrofloxacina: la sustancia patrón fue suministrada por Fluka, lote 0001369030. La especialidad farmacéutica utilizada para las pruebas fue suministrada por el laboratorio de especialidades veterinarias Bayer fue Baytril®

inyectable al 10% (Bayer, lote KP03JWW) y Baytril® Max LA (Bayer, lote KP03S4S).

Ciprofloxacina: la sustancia patrón fue suministrada por Fluka, lote 0001396108.

Ofloxacina: como patrón interno en la técnica cromatográfica, suministrada por Sigma Chemical CO, lote 038K1555.

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

- Agujas estériles desechables (0.9 x 25 mm 20 G x 1", Becton Dickinson).
- Agujas estériles desechables (0.8 x 40 mm 21 G x 1 1/2", Becton Dickinson).
- Alcohol etílico 96° (PQS).
- Algodón hidrófilo.
- Gradillas para almacenamiento de tubos Eppendorf.
- Guantes de látex (Gahnos S.L.).
- Jeringas estériles desechables 2 ml (Becton Dickinson).
- Jeringas estériles desechables 5 ml (Becton Dickinson).
- Jeringas estériles desechables 10 ml (Becton Dickinson).
- Peladora (Oster Golden A5. 5-55H).
- Tubos Eppendorf (Daslab®).
- Tubos de plástico para análisis hematológicos con y sin EDTA.

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

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

III.1.5.- Instrumentación para la extracción y cuantificación

- Agitador horizontal de tubos (IKA VIBRAX VXR).
- Agitador magnético (Agimatic E).
- Balanza analítica de precisión (Mettler AE-160).
- Baño termostático B.A. BUNSEN.
- Centrífuga (Hettich Zentrifugen Universal 32 R).
- Refrigerador (Lieber pentium frost-free).
- Congelador (Hettizh freezer – 80°C).
- pHmetro (MicropH 2001, Crison).
- Purificador de agua (Millipore Simplicity®).

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

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

III.1.7.- Material diverso

- Pipetas de vidrio de 1, 5 y 10 ml.
- Micropipetas 200 y 1000 µl (Pipetman, Gilson).
- Puntas de micropipetas 200 y 1000 µl (Daslab®).
- Tubos de vidrio para centrífuga de 15 ml con tapón a rosca.
- Tubos de vidrio de 15 ml.
- Inserto de fondo plano (200 µL), FB micro-serts Nacional Scientific.
- Septos 8 mm teflón septa, 10MIL, Nacional Scientific.

III.1.8.- Instrumentación para el análisis de los datos

- Hoja de cálculo Microsoft® Excel 2003.
- Impresora DeskJet 720C (Hewlett Packard).
- Microsoft® Windows Vista.
- Ordenador (HP Compaq 8510p con procesador Intel Centrino ®).

- Procesador de texto Microsoft® Word 2003.
- Programa de tratamiento estadístico SPSS 6.1.3 1995.
- Programa de tratamiento estadístico y gráficas Graph Pad Prism 1.0 1994.
- Programa de tratamiento farmacocinético PC nonline.
- Escáner (Epson GT 7000).

III.2.- Métodos

III.2.1.- Acondicionamiento y mantenimiento de los animales

Los animales pertenecían a la granja experimental de la Universidad Católica de Córdoba (UCC, Argentina), donde se llevaron a cabo los experimentos, por lo que no fue necesario un periodo de aclimatación. Tres meses antes de iniciar las pruebas se controló que no se les suministrara ningún tratamiento o fueran sometidos a ninguna práctica que pudiera interferir con el desarrollo de la experimentación. Las pruebas fueron autorizadas por el comité de ética de la UCC.

Los animales seleccionados siguiendo el criterio de hembras no gestantes, tamaño uniforme, mansedumbre, estado corporal y clínicamente sanas, fueron separados del resto del grupo en un corral contiguo, para facilitar su manejo e identificación mediante caravana y cintas de colores. Se alimentaron a base de pienso y heno de alfalfa y tuvieron acceso al agua de bebida *ad libitum*.

Las llamas fueron desparasitadas 45 días antes del inicio de las pruebas con Albendazol (Valbazen® suspensión oral 1,9 %) a una dosis de 7,5 mg/kg de peso corporal y se mantuvieron en un ambiente libre de parásitos durante todo el tiempo que duró el estudio. Además, se realizaron análisis coprológicos para comprobar que se encontraban libres de parásitos.

Previo a cada estudio todos los animales fueron sometidos a exámenes clínicos y analíticas sanguíneas para verificar su estado de salud y las hembras fueron ecografiadas para comprobar que no estaban preñadas.

Examen físico general

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

Analítica sanguínea

Estos controles sanitarios se realizaron en el laboratorio de análisis clínicos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Católica de Córdoba. Las muestras de sangre se enviaron a dicho laboratorio inmediatamente después de ser extraídas.

- Análisis hematológicos: Se recogieron muestras de 2,5 ml en viales conteniendo EDTA como anticoagulante. Los parámetros estudiados fueron los siguientes:

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

- Bioquímica sanguínea: Se recogieron 2,5 ml de sangre en viales sin anticoagulante. Los valores estudiados fueron:

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

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

Al comienzo del estudio se procedió al rasurado del pelo de los cursos cervicales de las dos venas yugulares a través de las cuales se extraerían las

muestras. Se realizaron los lavados correspondientes con solución jabonosa de povidona yodada para desinfectar el área.

III.2.2.1.- Estudio 1: marbofloxacina

Se utilizaron 6 llamas (ver tabla 22) para estudiar el comportamiento farmacocinético de la marbofloxacina tras la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea dosis única y subcutánea dosis múltiple. El periodo entre los diferentes ensayos fue al menos de 15 días.

Administración del fármaco

Se administró una dosis de marbofloxacina solución inyectable al 10% (Marbocyl® 10%) de 5 mg/kg de peso corporal vía intravenosa en la vena yugular, intramuscular en el músculo semitendinoso y subcutánea en dosis única y subcutánea en dosis múltiple también de 5 mg/kg de peso corporal cada 24 horas, ambas en la región dorso-lumbar (con 5 administraciones en los tiempos 0, 24, 48, 72 y 96 horas).

Obtención de las muestras

La toma de muestras se realizó, mediante jeringas estériles. Se extrajeron 4 ml de sangre en cada una de las extracciones. Los ensayos se realizaron de la siguiente manera.

➤ Administración intravenosa:

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

➤ Administración intramuscular:

Antes de la administración (muestra 0), 10, 20, 30, 45, 60, 90 minutos, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 30, 36 y 48 horas post-administración.

➤ Administración subcutánea, dosis única:

Antes de la administración (muestra 0), 10, 20, 30, 45, 60, 90 minutos, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 24 y 36 horas post-administración.

➤ Administración subcutánea, dosis múltiple:

Antes de la primera administración (muestra 0), 15, 30, 45, 60, minutos, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 24 horas; 2º administración: 1, 2, 12 y 24 horas; 3º administración: 15, 30, 45, 60 minutos, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 24 horas; 4ª administración: 1, 2, 12 y 24 horas; 5ª administración: 15, 30, 45, 60 minutos, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 horas.

Tabla 23.- Tiempos para la obtención de muestras de marbofloxacina.

T°	Vía de administración y tiempo de extracción de la muestra							
	IV	IM	SC du	SC dm 1 ^a d	SC dm 2 ^a d	SC dm 3 ^a d	SC dm 4 ^a d	SC dm 5 ^a d
minutos	0	*	*	*	*			
	5	*						
	10	*	*	*				
	15	*			*		*	*
	20	*	*	*				
	30	*	*	*	*		*	*
	45	*	*	*	*		*	*
	60	*	*	*	*	*	*	*
horas	90	*	*	*				
	2	*	*	*	*	*	*	*
	3	*	*	*				
	4	*	*	*	*		*	*
	6	*	*	*	*		*	*
	8	*	*	*	*		*	*
	10	*	*	*	*		*	*
	12	*	*		*	*	*	*
	24	*	*	*	*	*	*	*
	30	*	*					
	36	*	*	*				*
	48	*	*					*
	60							*
	72							*
84							*	

III.2.2.2.- Estudio 2: enrofloxacin

Se utilizaron 6 animales (ver tabla 22) para estudiar el comportamiento de la enrofloxacin tras la administración de una dosis única vía intravenosa, intramuscular y subcutánea y dosis múltiple vía subcutánea, así como enrofloxacin LA dosis única y dosis múltiple, vía subcutánea. El periodo entre los diferentes ensayos fue de 15 días para el estudio con enrofloxacin, mientras que para la enrofloxacin LA el periodo entre los diferentes ensayos fue de 30 días (mayor a 10 semividas según recomienda la EMEA).

Administración del fármaco

Se administró una dosis de enrofloxacin solución inyectable al 10 % (Baytril® al 10%) de 5 mg/kg de peso corporal vía intravenosa en la vena yugular, intramuscular en el músculo semitendinoso y subcutánea dosis única y subcutánea dosis múltiple de 5 mg/kg de peso corporal cada 12 horas (9 dosis) y Baytril® Max LA subcutánea dosis única de 15 mg/kg de peso corporal y subcutánea dosis

múltiple 15 mg/kg de peso corporal cada 72 horas (2 dosis), todas ellas en la región dorso-lumbar.

Obtención de las muestras

La toma de muestras se realizó, mediante jeringas estériles. Se extrajeron 4 ml de sangre en cada una de las extracciones. Los ensayos se realizaron de la siguiente manera.

➤ Administración intravenosa:

Antes de la administración (muestra 0), 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 minutos, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 24 y 36 horas post-administración.

➤ Administración intramuscular:

Antes de la administración (muestra 0), 10, 20, 30, 45, 60, 90 minutos, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 24 y 36 horas post-administración.

➤ Administración subcutánea, dosis única:

Antes de la administración (muestra 0), 10, 20, 30, 45, 60, 90 minutos, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 24 y 36 horas post-administración.

➤ Administración subcutánea, dosis múltiple:

Antes de la primera administración (muestra 0), 15, 30, 45, 60, minutos, 2, 4, 6, 8, 10, y 12 horas; 2º administración: 1, 2, y 12 horas; 3º administración: 1, 2 y 12 horas; 4ª administración: 1, 2 y 12 horas; 5ª administración: 1, 2 y 12 horas; 6ª administración: 1, 2 y 12 horas; 7ª administración: 1, 2 y 12 horas; 8ª administración: 1, 2 y 12 horas; 9ª administración: 15, 30, 45, 60 minutos, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 horas post- administración.

➤ Enrofloxacin LA administración subcutánea, dosis única:

Antes de la administración (muestra 0), 15, 30, 45, 60 minutos, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 27, 30, 33, 36, 42, 48, 52, 56, 60, 72, 84 y 96 horas post-administración.

➤ Enrofloxacin LA administración subcutánea, dosis múltiple:

Antes de la primera administración (muestra 0), 15, 30, 45, 60, minutos, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 28, 32, 36, 48, 50, 52, 54, 56, 60, 72 horas; 2º administración: 5, 10, 15, 30, 45, y 60 minutos, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 28, 32, 36, 48, 50, 52, 54, 56, 60, 72, 76, 80, 84, 96, 102, 108, 120 post administración.

Tabla 24.- Tiempos para la obtención de muestras de enrofloxacin.

T°	Vía de administración y tiempo de extracción de la muestra															
	IV	IM	SC du	SC dm 1ªd	SC dm 2ªd	SC dm 3ªd	SC dm 4ªd	SC dm 5ªd	SC dm 6ªd	SC dm 7ªd	SC dm 8ªd	SC dm 9ªd	SC LA du	SC LA dm 1ªd	SC LA dm 2ªd	
minutos	0	*	*	*	*									*	*	
	5	*														*
	10	*	*	*												*
	15	*			*							*	*	*	*	*
	20		*	*												
	30	*	*	*	*							*	*	*	*	*
	45	*	*	*	*							*	*	*	*	*
	60	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	90	*	*	*												
horas	2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	3	*	*	*										*		
	4	*	*	*	*							*	*	*	*	*
	5													*		
	6	*	*	*	*							*	*	*	*	*
	8	*	*	*	*							*	*	*	*	*
	10	*	*	*	*							*		*	*	*
	12				*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	16													*		
	20													*		
	24	*	*	*								*	*	*	*	*
	27													*		
	28														*	*
	30													*		
	32														*	*
	33													*		
	36	*	*	*								*	*	*	*	*
	42													*		
	48											*	*	*	*	*
	50														*	*
	52													*	*	*
	54														*	*
	56													*	*	*
	60											*	*	*	*	*
72											*	*	*	*	*	
76															*	
80															*	
84											*	*			*	
96												*			*	
102															*	
108															*	
120															*	

III.2.3.- Registro de las muestras

El registro de las muestras se llevó a cabo en planillas diseñadas a tal fin, en las que constaban los datos de todos los animales: especie, código de identificación (crotal, lazo), peso, sexo y edad del animal, vía de administración, vía de extracción, fármaco, especialidad, número de lote, caducidad, número de muestra y número total de muestras que se realizaran en cada ensayo, la dosis y cantidad total de fármaco inyectado en cada caso, los tiempos de extracción de las muestras y la fecha del ensayo.

III.2.4.- Acondicionamiento de las muestras

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

Las muestras fueron transportadas en avión, con los permisos correspondientes del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino mediante solicitud de Importación de Material Biológico de Investigación, al laboratorio del Departamento de Toxicología y Farmacología de la UCM, en contenedores isotérmicos, manteniendo la temperatura mediante gel refrigerante a -20°C.

III.2.5.- Técnica y metodología extractiva

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

Metodología extractiva

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

- Se extrajeron 300 µl de suero y se introdujeron en un tubo de centrifuga de 15 ml de capacidad con tapón a rosca. Se añadieron 75 µl de una solución de patrón interno (a una concentración de 5 µg/ml de ofloxacina, disuelta en ácido fórmico 0,1 N. La concentración final de patrón interno en la muestra antes del procesado fue de 1 µg/ml).
- Se agitó la mezcla durante 5 minutos a 800 rpm.
- Se añadieron 4,5 ml de triclorometano, se taparon los tubos y se agitaron nuevamente durante 10 minutos a 1000 rpm.
- Se centrifugaron las muestras a 4000 rpm durante 7 minutos y 10 °C.
- Se separó la fase orgánica con pipetas Pasteur, y se pasó a otro tubo de vidrio (sin tapón de rosca), para su desecado en corriente de nitrógeno a 40°C durante aproximadamente 20 minutos.
- El residuo obtenido se reconstituyó con 150 µl de fase móvil y se rellenaron los insertos del inyector automático para su posterior determinación. El volumen de inyección en el cromatógrafo fue de 20 µl.

III.2.6.- Metodología analítica

III.2.6.1.- Detección de fármacos

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

Previamente a la puesta a punto del método se realizó un análisis del espectro de absorción de la marbofloxacina de 1 µg/ml disuelta en ácido fórmico 0,1 N y de la enrofloxacina 1 µg/ml disuelta en ácido fórmico 0,1 N para determinar la longitud de onda a seleccionar en cada uno de los estudios.

III.2.6.2.- Preparación de la Fase Móvil

Se utilizó una fase móvil compuesta por tampón pH 2.7: metanol: acetonitrilo: ácido acético: trietilamina (74: 20: 4: 1: 1, v/v/v/v/v). El tampón es una solución acuosa al 0.4% de hidrogenofosfato de amonio (p/v) y 0.4% de hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (p/v). El pH se ajustó con ácido fosfórico al 85 %. (740 ml de agua bidestilada junto con 2,96 g de hidrogenofosfato de diamonio y 2,96 g de hidrogenosulfato de tetrabutilamonio: agitación y medición del pH ajustándolo a un pH = 2,7 mediante adición de ácido fosfórico. Se retira del agitador y se le añaden 200 ml de metanol, 40 ml de acetonitrilo, 10 ml de ácido acético y 10 ml de trietilamina).

III.2.6.3.- Condiciones cromatográficas

Estudio 1: La columna utilizada para la detección y cuantificación de marbofloxacin fue Kromasil 100 C18 5 μm 15 x 0,46. Precolumna Kromasil C18 5U tamaño 15 x 4,6 mm. La longitud de onda seleccionada fue de 295 nm. Flujo de la fase móvil, isocrático a 0,6 ml/min.

Estudio 2: La columna utilizada para la detección y cuantificación de enrofloxacin fue Kromasil 100 C18 5 μm 15 x 0,46. Precolumna Kromasil C18 5U tamaño 15 x 4,6 mm. La longitud de onda seleccionada fue de 279 nm. Flujo de la fase móvil, isocrático a 1 ml/min.

Temperatura ambiente controlada a 24°C.

Volumen de muestra inyectada 20 μl .

III.2.6.4.- Validación del método analítico

Rectas de calibración

Se estudió la relación entre el cociente del área bajo la curva cromatográfica de distintas concentraciones de marbofloxacin en el estudio 1 y de enrofloxacin y ciprofloxacin en el estudio 2, sobre el área bajo la curva cromatográfica de una concentración fija de patrón interno, ofloxacin (AUC_q/AUC_o). A partir de dicha relación y por medio de una regresión lineal se construyeron las rectas de calibración cuyas ecuaciones se utilizaron, posteriormente para conocer las concentraciones de marbofloxacin (AUC_m/AUC_o), enrofloxacin (AUC_e/AUC_o) y ciprofloxacin (AUC_c/AUC_o) presentes en las muestras problema.

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

Estudio 1: para la marbofloxacin con un intervalo de 0,025 a 1 $\mu\text{g/ml}$ (0,025; 0,05; 0,1; 1) para la primera recta y un intervalo de 1 a 15 $\mu\text{g/ml}$ (1; 2,5; 5; 10; 15) para la segunda recta.

Estudio 2: para la enrofloxacin con un intervalo de 0,025 a 1 $\mu\text{g/ml}$ (0,025; 0,05; 0,1; 0,5; 1) para la primera recta y de 1 a 16,66 $\mu\text{g/ml}$ (1; 2,5; 5; 10; 16,66) para la segunda recta.

Para la ciprofloxacin con un intervalo de 0,025 a 1 $\mu\text{g/ml}$ (0,025; 0,05; 0,1; 0,5; 1) para la primera recta y de 1 a 10 $\mu\text{g/ml}$ (1; 2,5; 5; 10) para la segunda recta.

El suero fortificado con los fármacos a las diferentes concentraciones, llevaba también el patrón interno (ofloxacin) tal y como se describe en el apartado III.2.5 de extracción.

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

III.2.6.5.- Linealidad

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

El intervalo de concentraciones estudiadas fue:

Estudio 1: marbofloxacina de 0,025 a 15 µg/ml y ofloxacina de 0,5 a 5 µg/ml.

Estudio 2: enrofloxacina 0.025 µg/ml a 16,66 µg/ml y ciprofloxacina de 0,025 a 10 µg/ml y ofloxacina de 0,5 a 5 µg/ml.

Las soluciones fueron preparadas cada día por sextuplicado y cada solución inyectada por duplicado, determinándose el área bajo la curva cromatográfica (AUC) media y la desviación estándar para cada concentración (fueron utilizadas al menos 2 curvas por día, durante 3 días distintos, 6 determinaciones de cada concentración). Los resultados fueron procesados mediante regresión lineal obteniéndose una ecuación que define la relación existente entre las distintas concentraciones ensayadas y la respuesta observada (AUC).

III.2.6.6.- Precisión y exactitud

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

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

Donde DE es la desviación estándar.

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

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

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

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

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

III.2.6.7.- Límite de detección

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

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

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

III.2.6.8.- Límite de cuantificación o sensibilidad

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

III.2.6.9.- Reproducibilidad del método analítico

La reproducibilidad del método analítico se determinó a partir de los coeficientes de variación inter-día e intra-día. Para ello se utilizaron los valores de área bajo la curva cromatográfica (AUC) de cuatro concentraciones distintas.

Estudio 1: para marbofloxacin 0,25; 0,1; 1 y 10 µg/ml.

Estudio 2: para la enrofloxacin 0,05; 0,5; y 5 µg/ml y para ciprofloxacina 0,05, 0,5, y 5 µg/ml.

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

III.2.6.10.- Recuperación

La recuperación del método extractivo se calculó con las áreas bajo la curva de ocho concentraciones distintas (0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2; 5 µg/ml). Se utilizaron 6 mediciones de cada concentración realizadas en días diferentes

mediante la adición al suero de un pequeño volumen (<4 %) de distintas soluciones de marbofloxacina y enrofloxacina que permitan lograr dichas concentraciones.

Los porcentajes medios de recuperación y su error estándar fueron calculados por comparación de las AUC obtenidas tras la extracción de marbofloxacina y enrofloxacina a partir del suero y las AUC que correspondían a cada concentración de acuerdo a las ecuaciones de las rectas de linealidad de los fármacos en ácido fórmico 0.1 N.

Estos valores se determinaron sólo para establecer la bondad de nuestro método extractivo y no para el cálculo de las concentraciones, ya que las rectas de calibración utilizadas para dicho cálculo fueron confeccionadas en suero y, por lo tanto, no fue necesario corregir los resultados con el valor de la recuperación.

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

III.2.7.- Tratamiento cinético

Los valores de la evolución de las concentraciones plasmáticas de las fluoroquinolonas en función del tiempo se ajustaron a modelos farmacocinéticos compartimentales (monocompartimental y bicompartimental) y/o no compartimentales basados en la teoría de los momentos estadísticos mediante el programa de cálculo de parámetros farmacocinéticos PC nonlin.

Se eligió el modelo farmacocinético no compartimental para las vías intramuscular y subcutánea, e intravenosa, si bien a esta última vía también se realizó un análisis compartimental (monocompartimental, bicompartimental y tricompartmental, con y sin ponderación), comprobando cual era el que mejor se ajustaba a los criterios de Akaike (AIC), al índice de correlación (CORR) y al índice de SCHWARZ (SC).

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

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

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

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

función del tiempo desde el tiempo 0 hasta infinito para la vía intravenosa; $D_{i.v.}$ es la dosis administrada por la vía intravenosa.

III.2.8.- Tratamiento estadístico

Los resultados obtenidos se expresaron como media aritmética, corregida por una medida de dispersión (desviación estándar).

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa SPSS 17.0 para Windows.

Los métodos estadísticos utilizados fueron los siguientes (SPSS INC, 2007):

- Estadística descriptiva de las variables continuas (procedimiento DESCRIPTIVE) para la descripción de las muestras: media, desviación estándar, máximo, mínimo, mediana, desviación estándar de la media, etc. (Ferrán, M., 1996).

- Análisis de la varianza, ANOVA (procedimiento ONEWAY), para la comparación de múltiples medias. Cuando el valor global de la F de Snedecor es significativo nos indica que las medias en los grupos no son iguales. Se muestra el test de Bonferroni que realiza comparaciones múltiples de medias, ordenando las medias de menor a mayor y compara las diferencias entre pares (menor-mayor), conectando los grupos que no difieren significativamente. De esta manera halla subconjuntos de medias no significativamente diferentes. Si dos medias se agrupan en un mismo subconjunto no son diferentes significativamente, en otro caso serán diferentes significativamente (Ferrán, M., 1996; Sánchez y col., 1996).

- Test de la t de Student pareada (procedimiento T-TEST) para la comparación de muestras relacionadas comparando las medias de un atributo en dos momentos de tiempo (antes y después) (Ferrán, M., 1996).

Se determinó la normalidad de los datos mediante el test de Shapiro Wilk.

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

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

III.2.9.- Cálculo de índices de eficacia

Para la realización de los estudios de los índices farmacocinéticos /farmacodinámicos de marbofloxacin y enrofloxacin se utilizaron los valores de concentraciones máximas (C_{max} y C_0 en el caso de la IV) y de área bajo la curva ($AUC_{0-\infty}$) obtenidos por las diferentes vías de administración IV, IM y SC, en dosis únicas o múltiples según los diversos regímenes posológicos para marbofloxacin y enrofloxacin y SC en formulación retardada en el caso de la enrofloxacin y los datos de Concentraciones Inhibitorias Mínimas (MIC_{90}) procedentes de la bibliografía, correspondientes a bacterias de especies rumiantes y camélidos al no disponer de estos valores en llamas. Se seleccionaron aquellas bacterias responsables de causar infecciones intestinales y respiratorias tanto en las llamas como en otras especies

En el caso de la marbofloxacin se seleccionaron los datos obtenidos por Meunier y col., en 2004 para bovino con valores de MIC_{90} para *Salmonella spp.* con un valor de MIC_{90} de 0,073 $\mu\text{g/mL}$, para *Mannheimia hemolytica* de 0,42 $\mu\text{g/mL}$ y para *Pasteurella multocida* de 0,56 $\mu\text{g/mL}$ y para la enrofloxacin se utilizaron los datos en cabras de Elmas y col., (2001) para *Salmonella spp.* con un valor de MIC_{90} de 0,03 $\mu\text{g/mL}$, en ovejas de Bermingham y col., (2002) para *Pasteurella multocida* de 0,15 $\mu\text{g/mL}$ y para *Mannheimia haemolytica* de 0,03 $\mu\text{g/mL}$, y en camélidos de Gandolf y col., (2005) para *Clostridium perfringens* de 0,25 $\mu\text{g/mL}$.

Para la estimación de los índices de prevención de mutaciones AUC/MPC y tiempo en que las concentraciones están por encima de la MPC ($T_{>MPC}$), como porcentaje de tiempo en 12, 24 y 72 horas (intervalo de dosis), se emplearon los valores de MPC publicados por diferentes autores obtenidos en especies no rumiantes, estimados para los diferentes regímenes de tratamiento y por las diferentes vías de administración IV, IM SC dosis única, SC dosis múltiple para marbofloxacin y enrofloxacin y SC en formulación retardada en el caso de la enrofloxacin. Para la marbofloxacin el valor encontrado de MPC frente a *E. coli* fue de 0,35 $\mu\text{g/mL}$ en perros y gatos (Wezstein, H.G. en 2005) y frente a *Klebsiella pneumoniae* de 0,512 $\mu\text{g/mL}$ en ratas (Kesteman y col., en 2009); para *Salmonella spp.* el valor 0,73 $\mu\text{g/mL}$ se obtuvo multiplicando por 10 la MIC_{90} para la misma cepa (Meunier y col., 2004); en el caso de la enrofloxacin se utilizaron los valores de MPC de Wezstein, H.G. en 2005 0,35-0,5 $\mu\text{g/mL}$ para *E. coli* en perros y gatos y de Pasquali y Manfreda en 2007, 1 $\mu\text{g/mL}$ para *Salmonella spp.* en pollos.

IV. Resultados

IV.1.- Examen clínico y analítica sanguínea de los animales

El examen clínico, así como los análisis realizados, hematología, y bioquímica sanguínea y coprológico, pusieron de manifiesto el correcto estado de salud de los animales. Durante el tiempo que duró el estudio no se observó ningún signo de alteración de dicho estado. Tampoco se observó inflamación o manifestaciones de dolor tras la administración de los fármacos a estudiar por las diferentes vías.

Tabla 25.- Hematología previa al estudio y valores de referencia.

Animal	Hematocrito (%)	Hemoglobina (g/dl)	Hemáties (10 ⁶ /mm)	Leucocitos (10 ³ /mm)	Neutrófilos banda (%)	Neutrófilos segmentados (%)	Eosinófilos (%)	Basófilos (%)	Linfocitos (%)	Monocitos (%)
1	34	11.96	10.95	6.05	0	40	6	0	49	5
2	30	11.20	11.00	27.27	2	40	8	0	49	1
3	34	13.50	12.05	9.15	1	60	9	0	29	1
4	28	10.40	9.25	6.50	2	55	3	0	39	1
5	31	16.90	10.45	10.00	3	50	14	0	30	3
6	35	13.12	11.10	10.05	3	42	4	0	50	1
7	33	11.96	13.05	15.00	4	63	9	1	23	0
8	31	10.80	10.15	9.55	1	49	6	0	43	1
9	32	14.70	10.70	8.15	3	49	9	0	35	4
10	24	10.03	9.05	10.15	2	86	1	0	10	1
11	34	15.40	11.12	10.05	0	45	8	0	41	6
12	28	10.40	9.65	17.25	0	54	18	0	25	3
13	33	14.07	11.39	9.73	2	51	9	0	35	3
14	36	13.30	10.80	11.60	0	63	8	0	29	0
15	33	14.06	10.55	18.40	0	60	17	1	22	0
16	29	10.99	10.03	13.46	2	54	7	0	36	1
17	35	17.10	12.65	18.60	0	61	8	1	3	0
18	32	13.82	10.05	10.50	0	65	6	0	28	1
Ref.*	32-36	13-15	13-14	13-15	0-3	59	10	0-1	27	3

Tabla 26.- Hematología posterior al estudio y valores de referencia.

Animal	Hematocrito (%)	Hemoglobina ((g/dl)	Hemates (106/mm)	Leucocitos (103/mm)	Neutrófilos en banda (%)	Neutrófilos segmentados (%)	Eosinófilos (%)	Basófilos (%)	Linfocitos (%)	Monocitos (%)
1	24	12.18	8.15	8.25	0	60	3	0	36	1
2	28	11.70	8.80	8.25	0	54	5	0	36	5
3	26	14.20	8.80	6.60	0	78	9	0	13	0
4	22	14.20	7.60	4.45	2	60	11	0	25	2
5	22	10.50	7.15	12.80	0	70	15	0	15	0
6	23	10.90	7.70	10.05	3	61	4	0	32	0
7	26	11.42	8.35	14.60	3	60	4	0	31	2
8	30	9.38	9.60	8.40	1	49	2	0	44	4
9	28	10.60	9.80	7.95	0	59	8	0	31	2
10	19	6.53	7.45	11.10	1	87	3	0	9	0
11	28	11.01	10.05	10.90	0	62	8	0	28	2
12	19	8.16	7.05	15.75	0	76	1	0	21	2
13	26	12.46	8.95	9.14	1	64	10	0	27	2
14	28	11.78	8.49	10.90	0	79	9	0	23	1
15	26	12.45	8.29	17.28	0	75	19	0	17	1
16	23	9.73	7.89	12.64	1	68	8	0	28	0
17	28	15.14	9.94	17.47	0	76	9	0	2	1
18	25	12.24	7.90	9.86	0	82	7	0	22	0
Ref.*	32-36	13-15	13-14	13-15	0-3	59	10	0-1	27	3

Tabla 27.- Bioquímica sanguínea previa al estudio y valores de referencia.

Animal	Urea (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	GOT (UI/L)	GPT (UI/L)	FA (UI/L)	CPK (UI/L)
1	45	3.00	14	21	152	50
2	32	2.60	23	25	126	100
3	48	2.80	19	27	69	177
4	54	2.80	16	15	138	34
5	31	2.70	16	17	100	105
6	47	2.70	24	23	124	22
7	50	3.00	26	21	91	28
8	50	2.50	10	17	70	69
9	46	2.50	16	17	120	33
10	57	1.90	20	29	189	77
11	39	2.60	11	19	117	19
12	78	3.20	10	11	94	40
13	43	2.77	17	20	108	69
14	43	6.40	150	36	307	37
15	55	5.12	91	59	123	27
16	53	2.62	17	20	124	57
17	40	6.72	164	30	113	173
18	35	6.08	182	11	123	46
Ref.*	21-26	1,6-1,8	272-312	6-8	50-340	0-115

Tabla 28.- Bioquímica sanguínea posterior al estudio y valores de referencia.

Animal	Urea (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	GOT (UI/L)	GPT (UI/L)	FA (UI/L)	CPK (UI/L)
1	54	1.97	10	19	88	61
2	37	1.81	31	29	97	46
3	41	2.11	44	41	88	42
4	48	1.65	16	38	69	75
5	43	1.60	26	21	63	64
6	40	2.00	15	24	79	79
7	41	1.77	49	108	98	36
8	38	1.79	17	18	85	48
9	48	1.81	19	18	123	70
10	50	1.12	24	26	198	68
11	39	1.60	23	25	114	29
12	38	1.50	28	24	103	71
13	41	1.78	26	34	98	62
14	40	4.12	231	60	277	49
15	52	3.30	140	99	111	58
16	50	1.69	26	33	111	48
17	38	4.33	253	50	102	69
18	33	3.92	280	18	111	63
Ref.*	21-26	1,6-1,8	272-312	6-8	50-340	0-115

(*Valores de referencia según Hawkey y Gulland, 1988; Lassen y col., 1986; Mulrooney y col., 1989; Tornquist, S.J., 2009; Fowler y Zinkl, 1989; Garry, F., 1989; Garry y col., 1994).

Tabla 29.- CPK obtenidos tras la administración subcutánea e intramuscular de marbofloxacin y valor de referencia.

Vía	Tiempo	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
IM	0 h	38	39	134	139	102	ND	90	49
	12 h	1299	2068	1646	1331	2850	1942	1856	578
	24 h	389	971	565	619	879	623	674	214
SC	0 h	28	69	36	51	ND	60	49	17
	12h	171	480	163	ND	103	212	226	147
	24 h	79	360	123	109	75	183	155	108

Valor de referencia: 1-115 UI/L (Fowler y Zinkl, 1989)

(ND: no determinado)

Tabla 30.- CPK obtenidos tras la administración subcutánea e intramuscular de enrofloxacin y valor de referencia.

Vía	Tiempo	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DS
IM	0 h	65	ND	106	94	89	139	99	27
	12h	ND	2189	1742	1124	2390	1850	1859	486
	24 h	738	831	632	ND	712	679	718	74
SC	0 h	50	100	177	ND	105	ND	108	52
	12h	516	496	177	606	536	172	417	192
	24 h	82	65	72	138	98	89	91	26

Valor de referencia: 1-115 UI/L (Fowler y Zinkl, 1989)

(ND: no determinado)

Tabla 31.- CPK obtenidos tras la administración subcutánea de enrofloxacin LA y valor de referencia.

Tiempo	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DS
0	30	28	26	34	27	19	27	5
12 h	27	240	201	481	161	140	208	152
24 h	24	93	64	159	47	35	70	50

Valor de referencia: 1-115 UI/L (Fowler y Zinkl, 1989)

(ND: no determinado)

IV.2.- Metodología analítica

IV.2.1.- Metodología analítica de la marbofloxacin

IV.2.1.1.- Condiciones cromatográficas: longitud de onda

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

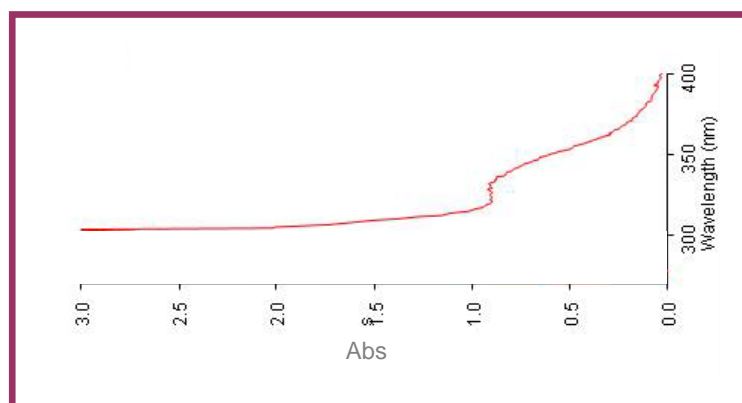


Figura 7.- Espectro de absorción ultravioleta de la marbofloxacin.

A las condiciones descritas en el apartado de material y métodos, el tiempo de retención calculado con las muestras utilizadas para la recta de calibración fue de $6,66 \pm 0,08$ para la marbofloxacina y de $8,15 \pm 0,12$ para la ofloxacina (patrón interno).

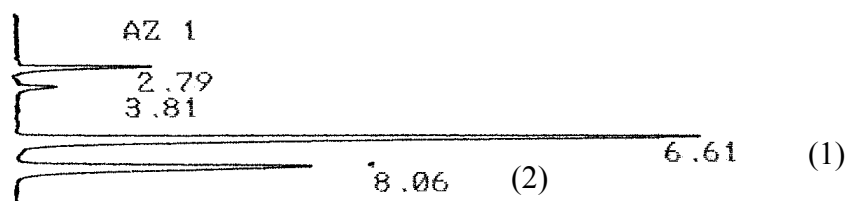


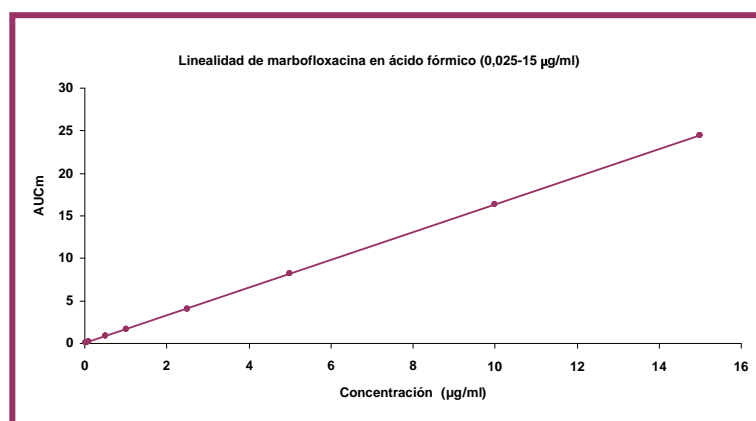
Figura 8.- Cromatograma obtenido tras el análisis mediante HPLC de una muestra plasmática que contiene marbofloxacina (1) y ofloxacina (2), como patrón interno.

IV.2.1.2.- Linealidad

La relación existente entre las distintas concentraciones de marbofloxacina (CC) disuelta en ácido fórmico 0,1 N y el área bajo la curva cromatográfica (AUC_m) resultó lineal en el intervalo de concentraciones ensayadas (0,025-15 µg/ml) y la ecuación de la recta obtenida mediante regresión lineal por mínimos cuadrados es la siguiente:

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

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



Gráfica 23.- Representación de la recta obtenida mediante regresión lineal de la relación entre las concentraciones de marbofloxacina en ácido fórmico y el área bajo la curva cromatográfica (AUC).

El patrón interno, ofloxacina, también muestra una relación lineal entre las distintas concentraciones y el área bajo la curva cromatográfica en el intervalo de concentraciones comprendidas entre 0,05 y 5 µg/ml.

IV.2.1.3.- Reproducibilidad del método analítico

La variabilidad inter-día e intra-día del método analítico da como resultado los siguientes coeficientes de variación (media ± DE).

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

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

IV.2.1.4.- Recuperación

El porcentaje medio de recuperación obtenido es de $91,73 \pm 4,57 \%$.

IV.2.1.5.- Rectas de calibración

En la tabla 32 se muestran los valores de concentración y áreas bajo la curva de la marbofloxacina con los que se construyeron las rectas.

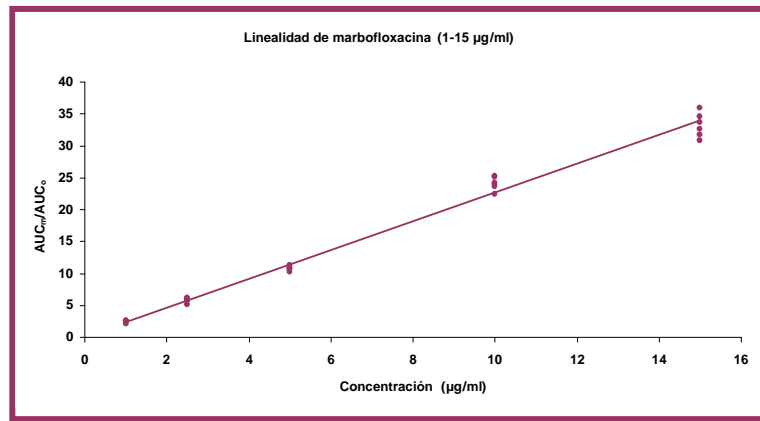
Tabla 32.- Relación AUC_m/AUC_o correspondiente a las distintas concentraciones plasmáticas de marbofloxacina (media ± DE).

CONCENTRACIÓN (µg/ml)	AUC_m/AUC_o (media ± DE)
0,025	0.0676 ± 0.0017
0,05	0.1321 ± 0.0062
0,1	0.2489 ± 0.0089
0,5	1.0923 ± 0.1634
1	2.4515 ± 0.1887
2,5	5.7914 ± 0.4154
5	10.7783 ± 0.3605
10	24.0868 ± 1.0702
15	33.2126 ± 1.8492

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

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

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

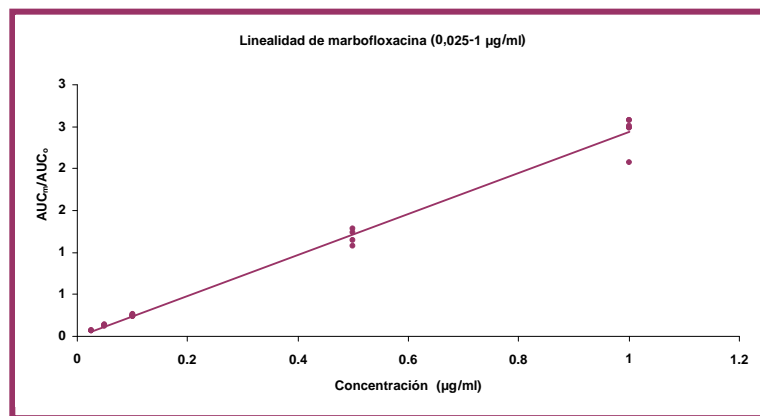


Gráfica 24.- Recta de calibración de la marbofloxacina para las concentraciones de marbofloxacina comprendidas entre 1-15 µg/ml.

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

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

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

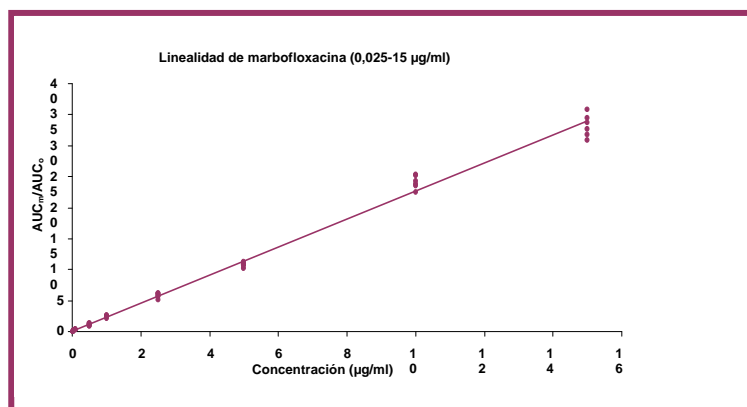


Gráfica 25.- Recta de calibración de la marbofloxacina para las concentraciones de marbofloxacina comprendidas entre 0,025 y 1 µg/ml.

El mismo análisis para concentraciones de marbofloxacina comprendidas entre 0,025 y 15 µg/ml:

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

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



Gráfica 26.- Recta de calibración para las concentraciones de marbofloxacina comprendidas entre 0,025 y 15 µg/ml.

IV.2.1.6.- Límite de cuantificación o sensibilidad

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

IV.2.2.- Metodología analítica de la enrofloxacin

IV.2.2.1.- Condiciones cromatográficas: longitud de onda

El análisis del espectro de absorción ultravioleta de la enrofloxacin disuelta en una solución de ácido fórmico 0,1 N, en una concentración de 1 µg/ml, presentó un pico de máxima absorbancia a una longitud de onda de 275 nm.

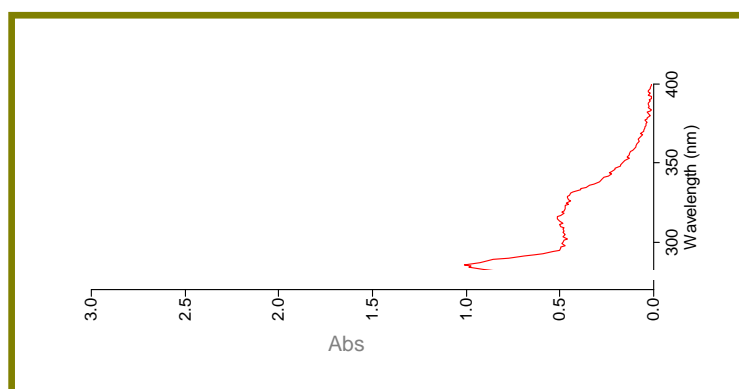


Figura 9.- Espectro de absorción ultravioleta de la enrofloxacin.

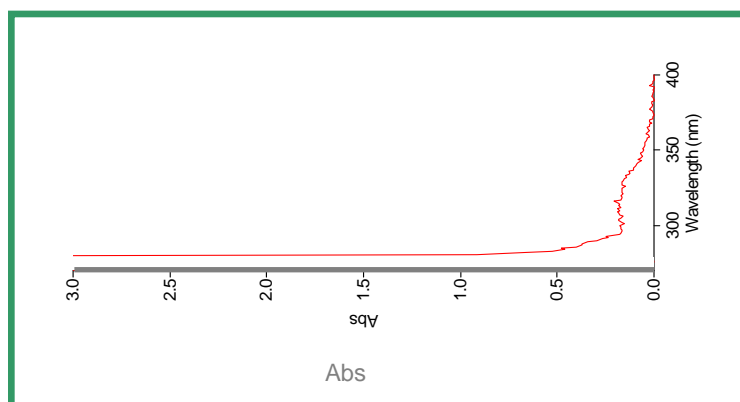


Figura 10.- Espectro de absorción ultravioleta de la ciprofloxacina.

El tiempo de retención calculado con las muestras utilizadas para la recta de calibración fue de $9,63 \pm 0,37$ para la enrofloxacin, de $7,88 \pm 0,35$ para la ciprofloxacina y de $5,22 \pm 0,18$ para la ofloxacina (patrón interno).

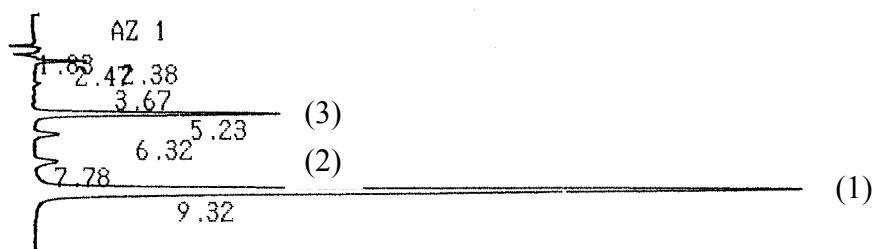


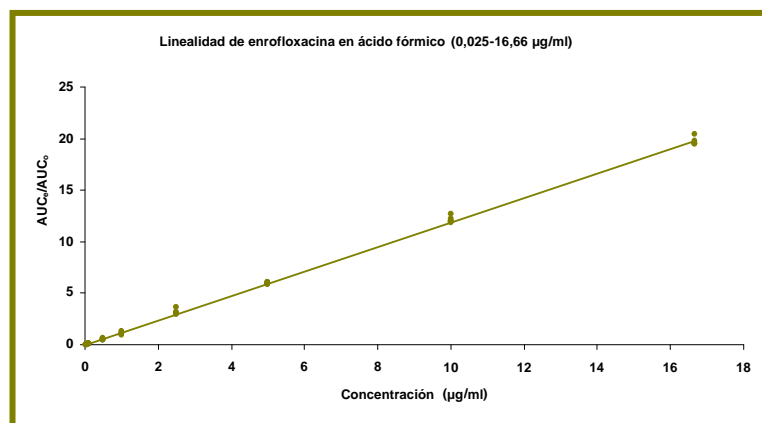
Figura 11.- Cromatograma obtenido tras el análisis por HPLC de una muestra plasmática que contiene enrofloxacin (1), su metabolito ciprofloxacina (2) y ofloxacina (3), como patrón interno (PI).

IV.2.2.2.- Linealidad

La relación existente entre las distintas concentraciones de enrofloxacin (CC) y ciprofloxacina disuelta en ácido fórmico 0,1 N y el área bajo la curva cromatográfica (AUC_c) resultó lineal en el intervalo de concentraciones ensayadas (0,025-16,6 $\mu\text{g/ml}$) y la ecuación de la recta obtenida mediante regresión lineal por mínimos cuadrados es la siguiente:

$$AUC_c = 1,1899 \times CC + (-0,005)$$

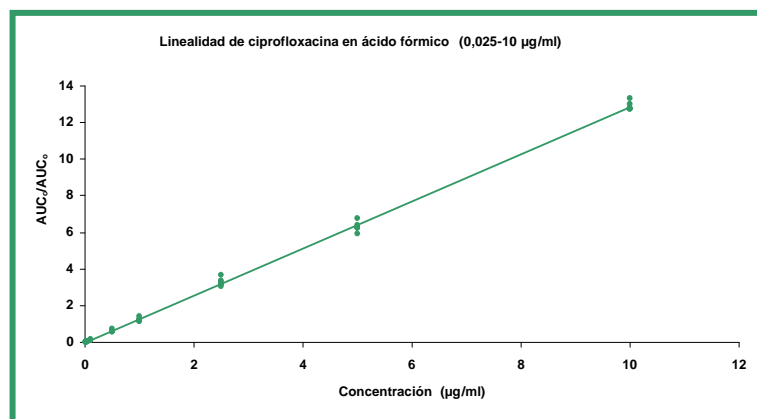
$$(r^2 = 0,9991)$$



Gráfica 27.- Representación de la recta obtenida mediante regresión lineal de la relación entre las concentraciones de enrofloxacin disuelta en ácido fórmico y el área bajo la curva cromatográfica.

$$AUC_c = 1,2861 \times CC + (-0,0291)$$

$$(r^2 = 0,9989)$$



Gráfica 28.- Representación de la recta obtenida mediante regresión lineal de la relación entre las concentraciones de ciprofloxacina en ácido fórmico y el área bajo la curva cromatográfica.

El patrón interno, ofloxacin, también muestra una relación lineal entre las distintas concentraciones y el área bajo la curva cromatográfica en el intervalo de concentraciones comprendidas entre 0,05-5 µg/ml.

IV.2.2.3.- Reproducibilidad del método analítico

La variabilidad inter-día e intra-día del método analítico da como resultado los siguientes coeficientes de variación (media ± DE).

Enrofloxacin	Ciprofloxacina
C.V. inter-día = 7,58 ± 6,52	C.V. inter-día = 9,09 ± 4,02
C.V. intra-día = 3,38 ± 1,49	C.V. intra-día = 5,95 ± 4,57

IV.2.2.4.- Recuperación

El porcentaje medio de recuperación obtenido es de 95,15 ± 4,67 % para la enrofloxacin y 88,09 ± 9,80 % para la ciprofloxacina.

IV.2.2.5.- Rectas de calibración

En la tabla 33 se muestran los valores de concentración y áreas bajo la curva de la enrofloxacin con los que se construyeron las rectas.

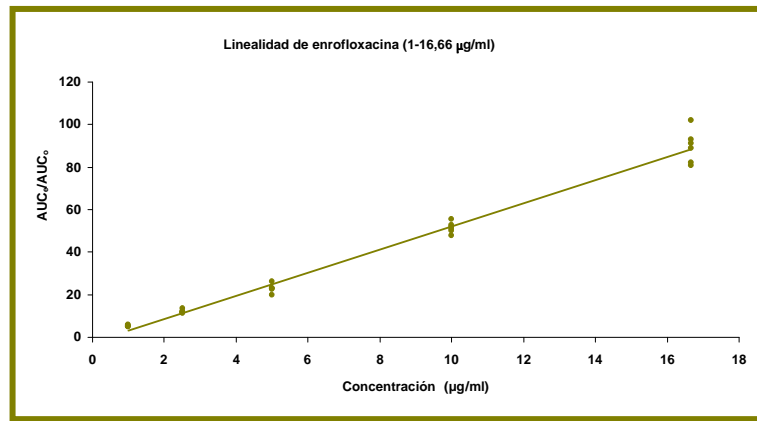
Tabla 33.- Relación AUC_e/AUC_o correspondiente a las distintas concentraciones plasmáticas de enrofloxacin (media ± DE).

CONCENTRACIÓN (µg/ml)	AUC_e/AUC_o (media ± DE)
0,025	0,1945 ± 0,0377
0,05	0,3679 ± 0,0164
0,1	0,6370 ± 0,0469
0,5	2,7433 ± 0,0835
1	5,5867 ± 0,3858
2,5	12,0338 ± 0,6998
5	22,9011 ± 2,0727
10	51,4589 ± 2,4972
16,66	89,5916 ± 7,6590

El análisis, mediante regresión lineal por mínimos cuadrados, de los valores del cociente entre el área bajo la curva cromatográfica de la enrofloxacin y el área bajo la curva cromatográfica del patrón interno (AUC_e/AUC_o), para las concentraciones de enrofloxacin comprendidas entre 1 y 16,66 µg/ml, dio lugar a la siguiente ecuación.

$$AUC_e = 5,45029 \times CC + (-2,1928)$$

$$(r^2 = 0,984955) \text{ recta para valores altos } 1\text{-}16,66 \text{ µg/ml}$$

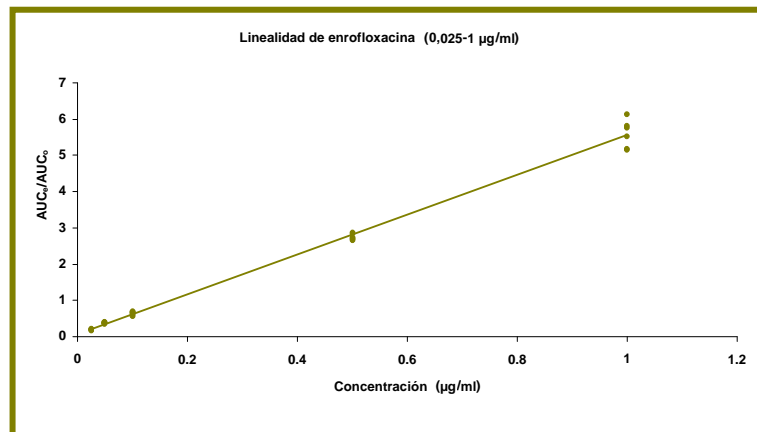


Gráfica 29.- Recta de calibración para las concentraciones de enrofloxacin comprendidas entre 1 y 16,66 µg/ml.

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

$$AUC_e = 5,48902 \times CC + 0,066889$$

$$(r^2 = 0,993143) \text{ recta para valores bajos } 0,025\text{-}1 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

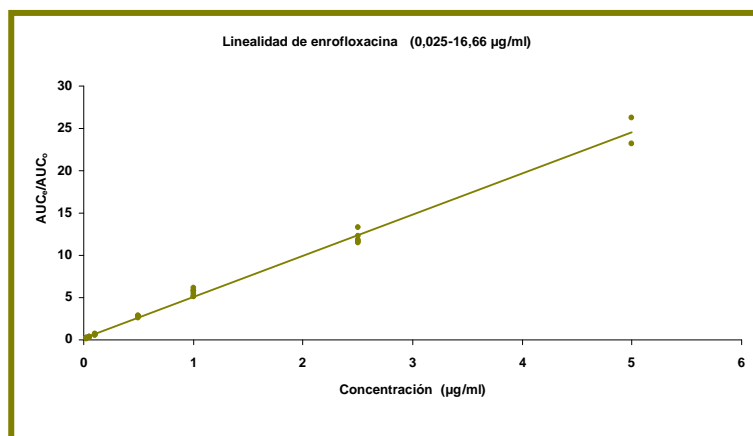


Gráfica 30.- Recta de calibración para las concentraciones de enrofloxacin comprendidas entre 0,025 y 1 µg/ml.

El mismo análisis para concentraciones de enrofloxacin comprendidas entre 0,025 y 16,66 µg/ml:

$$AUC_e = 5,31129 \times CC + (-0,535016)$$

$$(r^2 = 0,990206) \text{ recta total para valores entre } 0,025 \text{ y } 16,66 \text{ } \mu\text{g/ml}.$$



Gráfica 31.- Recta de calibración para las concentraciones de enrofloxacin comprendidas entre 0,025 y 16,66 µg/ml.

En la tabla 34 se muestran los valores de concentración y áreas bajo la curva de la ciprofloxacina con los que se construyeron las rectas.

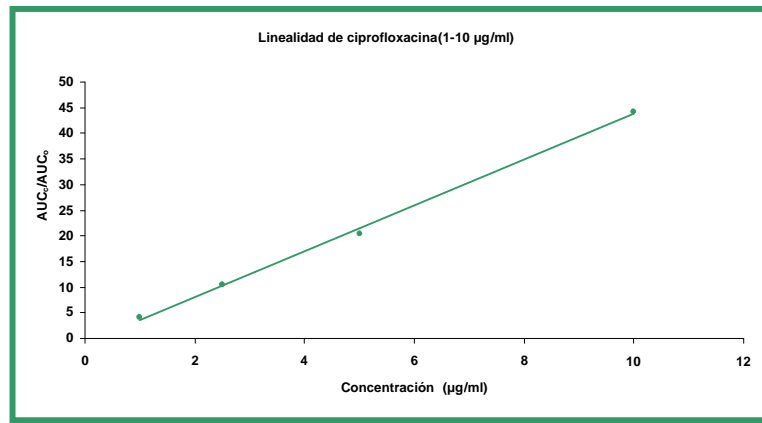
Tabla 34.- Relación AUC_c/AUC_o correspondiente a las distintas concentraciones plasmáticas de ciprofloxacina (media ± DE).

CONCENTRACIÓN (µg/ml)	AUC _c /AUC _o (media ± DE)
0,025	0,1150 ± 0,0086
0,05	0,2284 ± 0,0237
0,1	0,3740 ± 0,1454
0,5	2,2162 ± 0,1835
1	4,0399 ± 0,6331
2,5	10,4612 ± 0,3677
5	20,4476 ± 0,9466
10	44,1475 ± 7,2689

El análisis, mediante regresión lineal por mínimos cuadrados, de los valores del cociente entre el área bajo la curva cromatográfica de la ciprofloxacina y el área bajo la curva cromatográfica del patrón interno (AUC_c/AUC_o), para las concentraciones de ciprofloxacina comprendidas entre 0,025 y 10 µg/ml, dio lugar a la siguiente ecuación:

$$AUC_c = 4,45700 \times CC + (-0,839576)$$

($r^2 = 0,952161$) recta para valores altos 1-10 µg/ml.

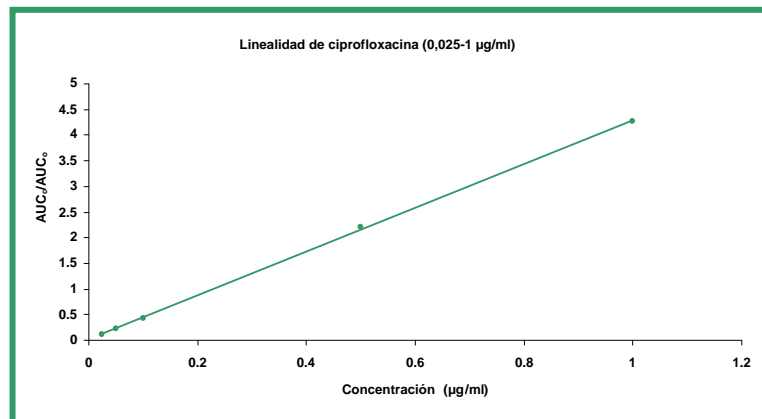


Gráfica 32.- Recta de calibración para las concentraciones de ciprofloxacina comprendidas entre 1 y 10 µg/ml.

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

$$AUC_c = 4,27776 \times CC + 0,206403$$

($r^2 = 0,989994$) recta para valores bajos 0,025-1 µg/ml.

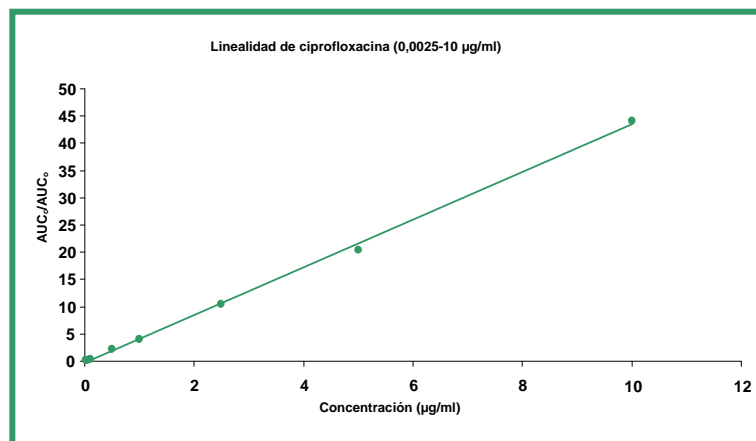


Gráfica 33.- Recta de calibración para las concentraciones de ciprofloxacina comprendidas entre 0,025 y 1 µg/ml.

El mismo análisis para concentraciones de ciprofloxacina comprendidas entre 0,025 y 10 µg/ml:

$$AUC_c = 4,37247 \times CC + (-0,226521)$$

($r^2 = 0,972167$) recta total para valores de 0,025 y 10 µg/ml.



Gráfica 34.- Recta de calibración para las concentraciones de ciprofloxacina comprendidas entre 0,025 y 10 µg/ml.

IV.2.2.6.- Límite de cuantificación o sensibilidad

El límite de cuantificación del método analítico calculado para la enrofloxacin y la ciprofloxacina fue de 0,025 µg/ml. La enrofloxacin presento un valor de exactitud de $88,52 \pm 5,12$ y de precisión de $3,45 \pm 1,90$, y la ciprofloxacina de $90,04 \pm 7,50$ y $10,21 \pm 4,85$ respectivamente.

IV.3.- Estudio farmacocinético

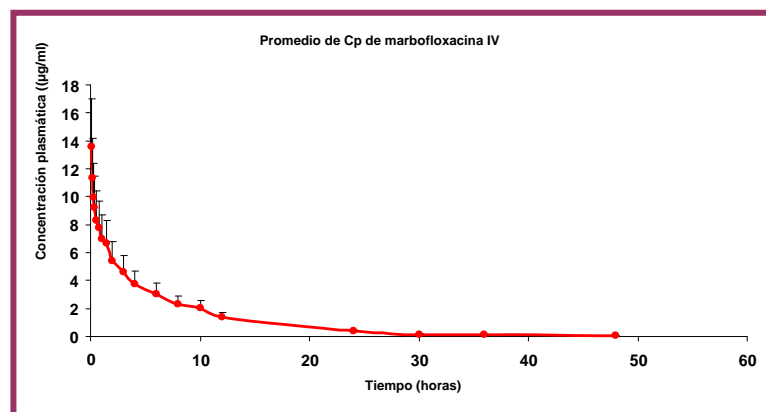
IV.3.1.- Estudio farmacocinético de la marbofloxacina

IV.3.1.1.- Prueba n° 1: administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacina.

En la tabla 35 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo, obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de marbofloxacina; en la gráfica 35 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes; en las tablas 36 y 37 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a modelos bicompartimental y no compartimental.

Tabla 35.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de pv de marbofloxacina.

Tiempo(h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0.08	7.64	12.86	10.22	17.35	15.46	18.01	13.59	4.11
0.17	7.41	10.71	9.40	12.23	13.30	14.84	11.31	2.70
0.25	6.26	9.13	8.04	11.07	11.02	14.10	9.94	2.74
0.33	4.67	8.44	7.46	10.37	10.47	13.80	9.20	3.11
0.50	4.44	7.82	7.33	9.87	8.94	11.64	8.34	2.45
0.75	5.45	6.86	8.60	7.48	7.78	10.42	7.77	1.67
1	4.49	5.90	6.96	7.23	7.57	9.59	6.96	1.71
1.50	4.53	5.88	6.37	6.46	7.05	9.58	6.65	1.67
2	4.19	3.71	4.10	5.69	6.25	8.63	5.43	1.86
3	2.97	3.96	4.29	5.16	4.06	7.31	4.63	1.49
4	2.89	3.93	2.50	3.25	3.68	6.37	3.77	1.38
6	1.65	2.80	2.60	2.56	3.03	5.70	3.06	1.38
8	1.43	2.76	1.58	1.55	2.25	4.37	2.32	1.13
10	1.24	2.21	1.44	1.55	1.92	3.92	2.05	0.98
12	0.81	1.42	0.99	0.75	1.19	3.10	1.38	0.88
24	0.19	0.33	0.33	0.13	0.28	0.93	0.36	0.29
30	0.12	0.21	0.03	0.09	0.15	0.33	0.16	0.10
36	0.07	0.12	0.10	0.05	0.09	0.17	0.10	0.04
48	0.04	0.06	0.05	0.03	0.04	0.15	0.06	0.05



Gráfica 35.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacina tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de pv vía intravenosa en llamas expresadas como media \pm DE, ajustadas a un modelo bicompartimental abierto de primer orden (n=6).

Tabla 36.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de pv de marbofloxacin (modelo bicompartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
A (µg/ml)	5.35	7.88	7.04	10.67	8.80	9.87	8.27	1.94
B (µg/ml)	0.84	5.12	2.28	0.65	4.84	9.17	3.82	3.24
α (h)	0.21	1.91	0.33	0.26	0.87	2.35	0.99	0.92
β (h)	0.07	0.10	0.09	0.07	0.11	0.09	0.09	0.02
AUC(µg·h/ml)	37.44	56.76	47.94	50.71	55.77	104.33	58.83	23.35
$t_{1/2 K10}$ (h)	4.19	3.03	3.56	3.11	2.83	3.80	3.42	0.52
$t_{1/2 \alpha}$ (h)	3.23	0.36	2.11	2.68	0.80	0.30	1.58	1.26
$t_{1/2 \beta}$ (h)	10.31	7.12	8.06	9.99	6.53	7.57	8.26	1.55
K10 (h)	0.17	0.23	0.19	0.22	0.24	0.18	0.21	0.03
K12 (h)	0.03	0.97	0.08	0.02	0.35	1.08	0.42	0.48
K21 (h)	0.09	0.81	0.15	0.08	0.38	1.18	0.45	0.45
Volumen(L/kg)	0.81	0.38	0.54	0.44	0.37	0.26	0.47	0.19
C_0 (µg/ml)	6.19	13.00	9.32	11.32	13.64	19.04	12.09	4.35
Cl (L/kg·h)	0.13	0.09	0.10	0.10	0.09	0.05	0.09	0.03
AUMC(µg·h/ml)	301.99	543.16	373.91	295.45	441.62	1095.38	508.58	302.08
MRT(h)	8.07	9.57	7.80	5.83	7.92	10.50	8.28	1.61
Vss(L/kg)	1.08	0.84	0.81	0.57	0.71	0.50	0.75	0.21

Para su posterior comparación con otras vías, también se realizó un estudio de la evolución de las concentraciones plasmáticas ajustadas a un modelo no compartimental (n=6).

Tabla 37.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de pv de marbofloxacin (modelo no compartimental).

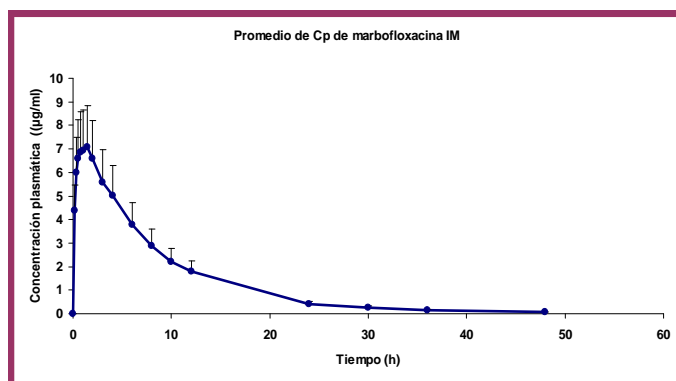
Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
C_0 (µg/ml)	7.84	15.13	11.02	23.68	17.68	21.40	16.13	6.05
AUC _{last} (µg·h/ml)	36.98	56.71	46.85	48.69	56.96	105.67	58.64	24.19
$t_{1/2 \lambda}$ (h)	10.02	9.85	8.11	10.34	8.92	7.71	9.16	1.08
AUC _∞ (µg·h/ml)	37.48	57.53	47.21	49.07	57.44	106.71	59.24	24.42
Vz (L/kg)	1.93	1.23	1.24	1.52	1.12	0.52	1.26	0.47
Cl (L/kg·h)	0.13	0.09	0.11	0.10	0.09	0.05	0.09	0.03
MRT _{last} (h)	7.34	8.07	7.21	5.57	6.91	8.73	7.30	1.07
MRT _∞ (h)	8.07	8.84	7.61	6.01	7.36	9.22	7.85	1.15
Vss(L/kg)	1.08	0.77	0.81	0.61	0.64	0.43	0.72	0.22

IV.3.1.2.- Prueba n° 2: administración intramuscular dosis de 5 mg/kg de marbofloxacina.

En la tabla 38 se reflejan las concentraciones plasmáticas en función del tiempo obtenidas tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de marbofloxacina; en la gráfica 36 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes; en la tabla 39 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar ajustados a un modelo no compartimental.

Tabla 38.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y desviación estándar tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de pv de marbofloxacina.

Tiempo(h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0.17	5.92	5.40	4.90	2.68	3.23	4.19	4.39	1.26
0.33	6.75	7.17	7.56	2.89	5.65	5.98	6.00	1.68
0.50	6.68	7.36	9.32	3.78	6.38	6.10	6.61	1.80
0.75	7.01	7.96	8.27	4.70	6.88	6.39	6.87	1.27
1	7.32	8.10	7.54	5.19	6.93	6.40	6.91	1.02
1.50	7.50	7.88	8.02	5.68	7.56	5.79	7.07	1.06
2	6.59	7.67	7.26	5.61	7.27	5.04	6.57	1.04
3	5.44	5.77	6.00	5.49	6.28	4.54	5.59	0.60
4	5.90	5.29	4.86	4.87	5.69	3.57	5.03	0.83
6	4.61	4.21	1.88	4.19	4.76	2.96	3.77	1.12
8	3.58	3.11	1.28	3.41	3.59	2.29	2.88	0.92
10	2.51	2.27	0.97	2.72	3.05	1.72	2.21	0.75
12	2.03	1.84	0.76	2.18	2.62	1.31	1.79	0.66
24	0.66	0.36	0.02	0.42	0.72	0.39	0.43	0.25
30	0.42	0.20	0.11	0.26	0.44	0.22	0.27	0.13
36	0.22	0.12	0.06	0.14	0.23	0.13	0.15	0.06
48	0.09	0.05	0.03	0.05	0.10	0.05	0.06	0.03



Gráfica 36.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacina tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de pv vía

intramuscular en llamas expresadas como media \pm DE, ajustadas a un modelo no compartimental (n=6).

Tabla 39.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de pv de marbofloxacina (modelo no compartimental).

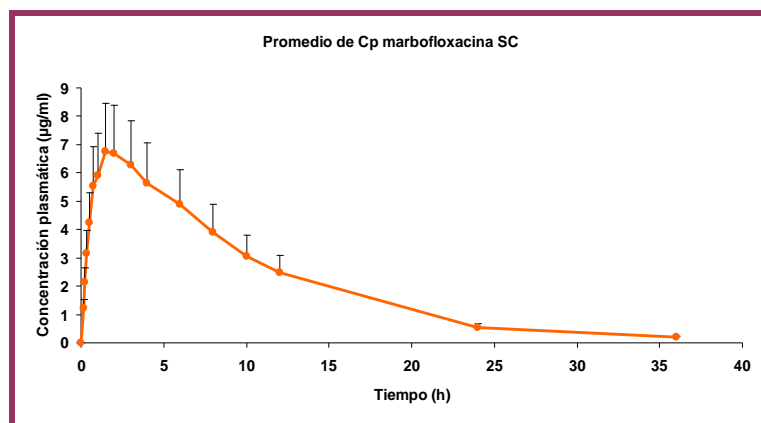
Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
T _{max} (h)	1.50	1.00	0.50	1.50	1.50	1.00	1.17	0.41
C _{max} (μ g/ml)	7.50	8.10	9.32	5.68	7.56	6.40	7.43	1.28
AUC _{last} (μ g·h/ml)	77.49	69.89	46.78	67.47	84.02	52.95	66.43	14.23
t _{1/2} λ (h)	8.23	8.77	8.42	8.12	8.37	8.93	8.47	0.31
AUC _∞ (μ g·h/ml)	78.52	70.49	47.08	68.10	85.17	53.63	67.16	14.50
Vz(L/kg)	0.76	0.90	1.29	0.86	0.71	1.20	0.95	0.24
Cl (L/kg·h)	0.06	0.07	0.11	0.07	0.06	0.09	0.08	0.02
MRT _{last} (h)	9.28	7.70	5.30	8.93	9.59	8.48	8.21	1.57
MRT _∞ (h)	9.94	8.15	5.65	9.40	10.27	9.14	8.76	1.69
F (%)	209.54	123.24	99.85	138.57	147.51	50.11	128.14	52.96

IV.3.1.3.- Prueba n° 3: administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de marbofloxacina.

En la tabla 40 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de marbofloxacina; en la gráfica 37 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes; en la tabla 41 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a un modelo no compartimental.

Tabla 40.- Concentración plasmática (μ g/ml), media y desviación estándar tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de pv de marbofloxacina.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.17	0.00	0.64	2.16	1.35	1.64	1.51	1.22	0.77
0.33	4.38	1.46	3.50	1.76	3.18	4.78	3.18	1.34
0.5	6.06	2.49	4.22	3.21	4.32	5.08	4.23	1.28
0.75	8.44	4.51	4.94	3.76	5.94	5.63	5.54	1.62
1	8.91	4.59	5.04	4.10	6.01	6.86	5.92	1.77
1.5	10.41	5.20	5.33	4.80	6.50	8.33	6.76	2.20
2	10.01	5.64	4.96	4.55	6.31	8.76	6.70	2.19
3	8.53	5.86	4.94	4.50	5.68	8.19	6.28	1.69
4	7.44	5.82	4.07	4.53	5.65	6.38	5.65	1.23
6	6.27	5.20	3.33	3.99	4.57	6.05	4.90	1.16
8	4.92	4.56	2.55	3.78	3.31	4.37	3.91	0.88
10	3.72	3.54	2.07	2.81	2.71	3.48	3.06	0.63
24	0.45	0.88	0.38	0.64	0.34	0.62	0.55	0.20
36	0.16	0.34	0.14	0.20	0.09	0.19	0.19	0.09



Gráfica 37.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacina tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de pv vía subcutánea en llamas expresadas como media \pm DE, ajustadas a un modelo no compartimental (n=6).

Tabla 41.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración SC de una dosis de 5 mg/kg de pv de marbofloxacina (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
T_{max} (h)	1.50	3.00	1.50	1.50	1.50	2.00	1.83	0.61
C_{max} (µg/ml)	10.41	5.86	5.33	4.80	6.50	8.76	6.94	2.19
AUC_{last} (µg·h/ml)	98.75	86.40	56.41	68.36	70.01	92.40	78.72	16.30
$t_{1/2}$ (h)	5.48	7.57	6.35	6.86	5.25	6.03	6.26	0.87
AUC_{∞} (µg·h/ml)	99.80	89.95	57.54	70.33	70.64	93.93	80.37	16.55
V_z (L/kg)	0.40	0.61	0.80	0.70	0.54	0.46	0.58	0.15
Cl (L/kg·h)	0.05	0.06	0.09	0.07	0.07	0.05	0.06	0.01
MRT_{last} (h)	7.33	9.65	7.95	9.23	7.43	8.02	8.27	0.96
MRT_{∞} (h)	7.72	11.12	8.67	10.25	7.75	8.61	9.02	1.38
F (%)	267.02	152.35	120.39	140.39	122.91	87.45	148.42	62.13

IV.3.1.4.- Prueba n° 4: administración subcutánea de dosis múltiple de 5 mg/kg/ cada 24 horas de marbofloxacina.

En la tabla 42 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo obtenidas tras la administración subcutánea de dosis múltiple con un total de 5 dosis de 5 mg/kg de peso corporal cada 24 h de marbofloxacina (las líneas gruesas indican los tiempos en los que se administró cada una de las dosis); en la gráfica 38 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes; en las tablas 43, 44, 45 y 46 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a un modelo no compartimental de la 1ª, 3ª y 5ª dosis, en este caso calculados hasta

la última extracción (84 horas) y a las 24 horas de esta última administración con objeto de poder comparar con la 1ª y 3º dosis en igualdad de tiempos.

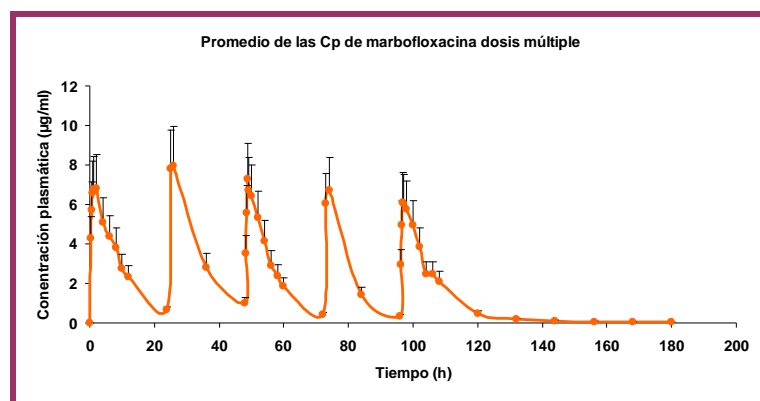
Tabla 42.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y desviación estándar tras la administración subcutánea de dosis múltiple (5 dosis) de 5 mg/kg de pv vivo cada 24 horas de marbofloxacin.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0.25	5.22	5.69	2.02	4.11	3.59	5.18	4.30	1.36
0.5	7.60	6.75	2.94	5.00	3.88	8.19	5.73	2.11
0.75	6.81	7.31	4.78	5.72	5.30	9.49	6.57	1.71
1	7.04	7.17	5.26	6.93	-	7.36	6.75	0.85
2	8.04	7.09	7.53	4.56	-	-	6.81	1.55
4	7.96	5.51	5.12	3.90	3.61	4.42	5.08	1.58
6	6.35	3.94	5.02	3.05	3.59	4.21	4.36	1.17
8	5.33	3.65	4.98	3.05	2.80	3.17	3.83	1.07
10	3.68	2.28	3.81	2.01	2.13	2.72	2.77	0.79
12	3.20	1.88	3.39	1.67	1.77	2.15	2.34	0.76
24	0.98	0.65	0.87	0.40	0.53	0.53	0.66	0.22
25	12.13	7.42	7.86	5.70	6.88	6.83	7.80	2.24
26	12.81	7.93	6.70	7.12	6.27	7.00	7.97	2.43
36	3.36	2.15	3.44	4.22	1.66	2.13	2.83	0.99
48	0.80	0.51	1.01	2.73	0.44	0.61	1.02	0.86
48.25	3.00	5.33	5.64	0.44	3.32	3.53	3.54	1.87
48.5	6.06	6.85	5.24	5.06	4.63	5.50	5.56	0.79
48.75	7.88	6.69	7.05	8.29	5.66	8.11	7.28	1.01
49	7.88	5.62	5.96	7.19	6.02	7.61	6.71	0.96
50	7.79	5.17	5.75	6.85	5.89	7.01	6.41	0.97
52	8.95	3.57	4.46	5.64	4.10	5.18	5.32	1.93
54	6.95	2.89	3.22	4.77	3.21	3.80	4.14	1.53
56	4.25	2.39	3.06	2.95	2.42	2.42	2.92	0.72
58	4.14	1.73	2.25	2.60	1.74	1.82	2.38	0.93
60	2.80	1.22	2.00	2.12	1.39	1.49	1.84	0.59
72	0.58	0.36	0.48	0.39	0.37	0.43	0.43	0.08
73	7.79	5.96	4.90	-	5.92	5.69	6.05	1.06
74	8.75	6.27	6.75	-	5.78	6.04	6.72	1.19
84	1.78	1.15	1.41	-	1.25	1.58	1.43	0.25
96	0.60	0.39	0.27	-	0.33	0.17	0.35	0.16
96.25	2.91	4.91	2.30	1.74	2.53	3.40	2.96	1.11
96.5	5.88	6.39	5.27	3.22	3.53	5.33	4.94	1.28
96.75	7.27	7.60	7.20	3.70	4.59	6.11	6.08	1.60
97	8.35	7.75	6.04	3.89	4.62	5.55	6.03	1.74
98	-	6.91	5.73	6.80	4.54	4.85	5.77	1.09

(Continúa en la página siguiente)

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
100	8.01	4.95	4.30	4.71	4.33	3.48	4.97	1.57
102	6.73	3.61	2.75	4.34	2.90	2.80	3.85	1.54
104	-	2.76	2.19	3.07	2.42	2.02	2.49	0.43
106	4.14	2.18	2.00	3.44	1.47	1.52	2.46	1.09
108	3.90	1.71	1.70	2.77	1.31	1.17	2.09	1.05
120	0.59	0.57	0.62	0.43	0.46	0.30	0.50	0.12
132	0.36	0.13	0.11	0.20	0.21	0.14	0.19	0.09
144	0.15	0.20	0.07	0.06	0.11	0.08	0.11	0.06
156	0.11	0.07	0.05	0.03	0.07	0.04	0.06	0.03
168	0.06	0.06	0.04	0.02	0.04	0.03	0.04	0.01
180	0.05	0.05	0.03	LOQ	0.05	LOQ	0.04	0.02

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)



Gráfica 38.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de marbofloxacina tras la administración de dosis múltiple (5 dosis) de 5 mg/kg/ de pv cada 24 horas vía subcutánea en llamas expresadas como media \pm DE, ajustadas a un modelo no compartimental (n=6).

Tabla 43.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración de la primera dosis subcutánea de dosis múltiple (5 dosis) de 5 mg/kg de pv cada 24 horas de marbofloxacina (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	2.00	0.75	2.00	1.00	0.75	0.75	1.21	0.62
$C_{max}(\mu g/ml)$	8.04	7.31	7.53	6.93	5.30	9.49	7.43	1.37
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	96.23	67.85	83.86	53.00	53.19	67.11	70.21	17.11
$t_{1/2 \lambda}(h)$	7.22	7.73	6.40	5.98	6.95	5.92	6.70	0.72
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	106.45	75.06	91.97	56.50	58.51	71.60	76.68	19.42
$Vz(L/kg)$	0.49	0.74	0.50	0.76	0.86	0.60	0.66	0.15
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.05	0.07	0.05	0.09	0.09	0.07	0.07	0.02
$MRT_{last}(h)$	7.68	7.00	8.29	7.07	7.53	7.02	7.43	0.51
$MRT_{\infty}(h)$	10.25	9.70	10.49	8.65	9.94	8.62	9.61	0.80
$F(\%)$	260.21	119.64	178.98	108.85	93.38	63.51	137.43	71.19

Tabla 44.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración de la tercera dosis subcutánea de dosis múltiple (5 dosis) de 5 mg/kg de pv cada 24 horas de marbofloxacin (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	4.00	0.50	0.75	0.75	1.00	0.75	1.29	1.34
$C_{max}(\mu g/ml)$	8.95	6.85	7.05	8.29	6.02	8.11	7.55	1.09
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	92.50	47.88	59.73	67.30	50.93	58.98	62.89	16.06
$t_{1/2} \lambda(h)$	5.04	5.74	6.06	5.04	6.24	6.69	5.80	0.67
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	96.66	50.64	63.95	70.14	54.25	63.11	66.46	16.39
$V_z(L/kg)$	0.38	0.82	0.68	0.52	0.83	0.77	0.67	0.18
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.05	0.10	0.08	0.07	0.09	0.08	0.08	0.02
$MRT_{last}(h)$	7.08	6.53	7.18	6.88	6.64	6.39	6.78	0.32
$MRT_{\infty}(h)$	8.12	7.93	8.87	7.87	8.26	8.17	8.20	0.36
F (%)	250.12	84.43	127.49	138.21	89.42	55.82	124.25	68.61

Tabla 45.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración de la quinta dosis subcutánea de dosis múltiple (5 dosis) de 5 mg/kg de pv cada 24 horas de marbofloxacin (cálculo a las 84 horas) (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	1.00	1.00	0.75	2.00	1.00	0.75	1.08	0.47
$C_{max}(\mu g/ml)$	8.35	7.75	7.20	6.80	4.62	6.11	6.80	1.32
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	112.96	71.49	61.17	74.34	54.74	49.47	70.70	22.79
$t_{1/2} \lambda(h)$	10.04	11.19	9.80	8.19	11.09	10.32	10.10	1.09
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	113.54	72.08	61.45	74.49	55.22	49.75	71.09	22.87
$V_z(L/kg)$	0.64	1.12	1.15	0.79	1.45	1.50	1.11	0.34
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.04	0.07	0.08	0.07	0.09	0.10	0.08	0.02
$MRT_{last}(h)$	10.90	11.21	10.68	10.21	12.03	10.12	10.86	0.70
$MRT_{\infty}(h)$	11.35	11.95	11.40	10.38	12.79	10.62	11.42	0.98
F (%)	305.45	126.05	130.56	152.66	96.11	46.82	142.95	87.61

Tabla 46.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración de la quinta dosis subcutánea de dosis múltiple (5 dosis) de 5 mg/kg de pv cada 24 horas de marbofloxacin (cálculo a las 24 horas) (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	1.00	1.00	0.75	2.00	1.00	0.75	1.08	0.47
$C_{max}(\mu g/ml)$	8.35	7.75	7.20	6.80	4.62	6.11	6.80	1.32
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	101.07	62.32	54.14	67.90	46.58	44.08	62.68	20.88
$t_{1/2} \lambda(h)$	5.03	7.32	8.25	5.15	7.33	6.09	6.53	1.31
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	105.58	68.29	61.50	71.30	51.33	46.75	67.46	20.94
$V_z(L/kg)$	0.34	0.77	0.97	0.52	1.03	0.94	0.76	0.28
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.05	0.07	0.08	0.07	0.10	0.11	0.08	0.02
$MRT_{last}(h)$	7.46	6.81	7.34	7.76	7.14	6.49	7.16	0.46
$MRT_{\infty}(h)$	8.48	9.23	10.76	8.89	9.68	7.99	9.17	0.97
F (%)	273.30	109.89	115.55	139.44	81.77	41.72	126.95	79.13

IV.3.2.- Estudio farmacocinético de la enrofloxacin

IV.3.2.1.- Prueba nº 1: administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin.

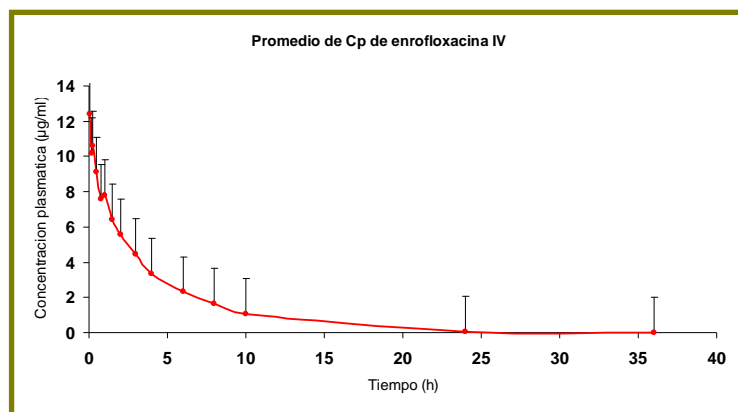
En la tabla 47 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de enrofloxacin; en la gráfica 39 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes; en las tablas 48 y 49 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a modelos bicompartimental y no compartimental.

En la tabla 50 se reflejan las concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$), media y DE de ciprofloxacina tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de enrofloxacin.

Tabla 47.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y desviación estándar, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0.08	11.98	15.25	14.56	10.33	11.16	11.06	12.39	2.03
0.17	9.19	14.83	-	8.59	8.67	9.58	10.17	2.63
0.25	12.46	11.57	7.12	10.63	11.96	9.82	10.59	1.95
0.5	11.82	10.84	6.41	10.23	7.93	7.42	9.11	2.15
0.75	10.30	9.77	5.38	7.02	6.50	6.45	7.57	1.99
1	9.17	10.27	-	6.96	5.86	6.80	7.81	1.83
1.5	7.20	7.44	6.61	5.91	5.17	6.16	6.42	0.85
2	6.38	5.95	4.53	5.09	5.04	6.37	5.56	0.78
3	4.77	4.31	4.28	4.68	4.29	4.51	4.47	0.21
4	3.50	3.15	3.70	3.27	3.35	3.23	3.37	0.20
6	2.39	2.24	2.71	2.06	2.30	2.21	2.32	0.22
8	1.59	1.61	2.17	1.21	1.52	1.74	1.64	0.31
10	1.20	1.18	1.85	0.52	0.52	1.15	1.07	0.50
24	0.08	0.05	0.24	0.04	0.03	0.04	0.08	0.08
36	0.02	0.08	LOQ	0.02	LOQ	LOQ	0.04	0.03

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)



Gráfica 39.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de pv vía intravenosa en llamas expresadas como media \pm DE, ajustadas a un modelo bicompartimental abierto de primer orden (n=6).

Tabla 48.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin (modelo bicompartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
A ($\mu\text{g/ml}$)	10.73	12.00	24.78	10.01	4.41	3.80	10.95	7.58
B ($\mu\text{g/ml}$)	0.92	2.54	6.68	0.07	8.19	8.84	4.54	3.83
α (h)	0.27	0.44	14.03	0.28	3.58	6.29	4.15	5.41
β (h)	0.11	0.10	0.14	0.03	0.24	0.22	0.14	0.08
AUC($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)	47.61	51.84	50.20	37.52	35.60	40.40	43.86	6.90
$t_{1/2 K10}$ (h)	2.83	2.47	1.11	2.58	1.96	2.22	2.19	0.61
$t_{1/2 \alpha}$ (h)	2.53	1.59	0.05	2.44	0.19	0.11	1.15	1.18
$t_{1/2 \beta}$ (h)	6.36	6.63	5.02	24.11	2.91	3.12	8.02	8.03
K10(h)	0.24	0.28	0.63	0.27	0.35	0.31	0.35	0.14
K12 (h)	0.02	0.10	10.45	0.01	1.06	1.73	2.23	4.09
K21 (h)	0.12	0.16	3.09	0.03	2.41	4.46	1.71	1.88
Volumen(L/kg)	0.43	0.34	0.16	0.50	0.40	0.40	0.37	0.11
C_0 ($\mu\text{g/ml}$)	11.65	14.54	31.46	10.07	12.60	12.64	15.49	7.96
Cl (L/kg·h)	0.11	0.10	0.10	0.13	0.14	0.12	0.12	0.02
AUMC($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)	220.53	295.47	351.01	205.48	144.65	179.33	232.74	76.71
MRT(h)	4.63	5.70	6.99	5.48	4.06	4.44	5.22	1.07
Vss(L/kg)	0.49	0.55	0.70	0.73	0.57	0.55	0.60	0.09

Para su posterior comparación con otras vías, también se realizó un estudio de la evolución de las concentraciones plasmáticas ajustadas a un modelo no compartimental (n=6).

Tabla 49.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$C_0(\mu\text{g/ml})$	15.16	15.64	20.39	12.16	13.96	12.56	14.98	2.99
$AUC_{\text{last}}(\mu\text{g}\cdot\text{h/ml})$	50.50	49.50	52.08	38.56	37.68	44.47	45.47	6.24
$t_{1/2\lambda}(\text{h})$	4.10	5.19	5.11	4.40	2.84	2.85	4.08	1.04
$AUC_{\infty}(\mu\text{g}\cdot\text{h/ml})$	50.59	49.76	53.91	38.65	37.78	44.62	45.89	6.65
$V_z(\text{L/kg})$	0.58	0.75	0.68	0.82	0.54	0.46	0.64	0.14
$Cl(\text{L/kg}\cdot\text{h})$	0.10	0.10	0.09	0.13	0.13	0.11	0.11	0.02
$MRT_{\text{last}}(\text{h})$	4.67	4.69	5.91	4.05	3.91	4.61	4.64	0.70
$MRT_{\infty}(\text{h})$	4.74	4.89	6.77	4.14	3.98	4.69	4.87	1.00
$V_{ss}(\text{L/kg})$	0.47	0.49	0.63	0.54	0.53	0.53	0.53	0.05

Tabla 50.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y DE de ciprofloxacina tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.08	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.17	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	0.03	0.00
0.25	LOQ	0.03	LOQ	0.02	0.03	LOQ	0.03	0.00
0.5	LOQ	0.05	LOQ	0.03	0.02	0.03	0.03	0.01
0.75	LOQ	0.04	0.03	0.07	0.06	0.03	0.05	0.02
1	LOQ	0.05	0.01	0.03	0.04	0.03	0.03	0.01
1.5	LOQ	0.05	0.04	0.11	0.04	0.04	0.05	0.03
2	LOQ	0.06	0.04	0.19	0.04	0.05	0.08	0.07
3	LOQ	0.04	0.04	0.06	0.04	0.05	0.04	0.01
4	LOQ	0.04	0.04	0.05	0.03	0.05	0.04	0.01
6	LOQ	0.04	0.03	0.03	0.03	0.05	0.04	0.01
8	LOQ	0.03	0.03	LOQ	LOQ	0.04	0.03	0.01
10	LOQ	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.00
24	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
36	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)

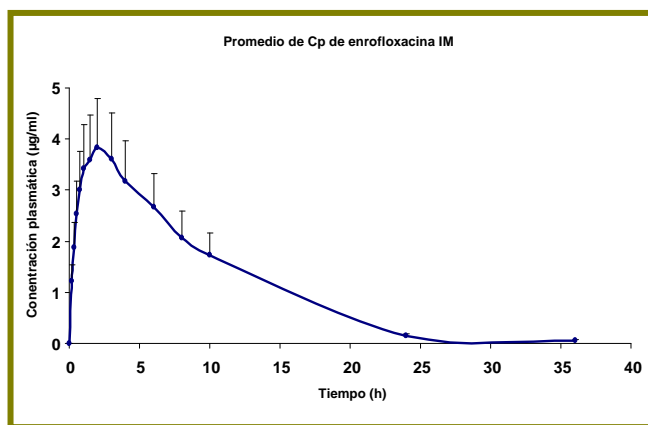
IV.3.2.2.- Prueba n° 2: administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin.

En la tabla 51 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo obtenidas tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de enrofloxacin; en la gráfica 40 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes; en la tabla 52 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar ajustados a un modelo no compartimental.

En la tabla 53 se reflejan las concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$), media y DE de ciprofloxacina tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de enrofloxacin.

Tabla 51.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y DE tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0.17	1.22	1.36	0.96	0.94	1.24	1.63	1.23	0.26
0.33	1.87	2.08	1.78	1.59	1.63	2.38	1.89	0.30
0.5	3.17	2.62	2.12	1.84	2.24	3.21	2.54	0.57
0.75	3.54	2.83	2.87	2.74	2.72	3.37	3.01	0.35
1	3.66	3.18	3.29	2.85	3.57	4.02	3.43	0.41
1.5	3.96	3.28	3.27	3.15	3.63	4.23	3.58	0.43
2	4.18	3.37	3.16	-	4.01	4.46	3.84	0.55
3	3.86	2.96	3.02	-	3.96	4.23	3.61	0.58
4	3.42	2.67	2.99	3.37	-	3.40	3.17	0.33
6	2.68	2.09	2.36	2.96	2.88	2.99	2.66	0.36
8	1.90	1.61	2.07	2.01	2.59	2.25	2.07	0.33
10	1.62	1.32	1.70	1.76	1.97	1.98	1.72	0.25
24	0.09	0.11	0.21	0.20	0.19	0.14	0.16	0.05
36	0.02	0.03	0.07	0.09	0.06	0.04	0.05	0.03



Gráfica 40.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de pv vía intramuscular en llamas expresadas como media \pm DE, ajustadas a un modelo no compartimental (n=6).

Tabla 52.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	2.00	2.00	1.00	4.00	2.00	2.00	2.17	0.98
$C_{max}(\mu g/ml)$	4.18	3.37	3.29	3.37	4.01	4.46	3.78	0.50
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	40.96	33.71	39.91	42.06	46.75	46.88	41.71	4.90
$t_{1/2 \lambda}(h)$	4.24	4.74	5.54	5.98	5.07	4.67	5.04	0.63
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	41.08	33.89	40.39	42.71	47.14	47.12	42.05	4.95
$V_z(L/kg)$	0.75	1.01	0.99	1.01	0.78	0.72	0.87	0.14
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.12	0.15	0.12	0.12	0.11	0.11	0.12	0.02
$MRT_{last}(h)$	6.57	6.87	7.85	7.87	7.50	7.02	7.28	0.54
$MRT_{\infty}(h)$	6.67	7.06	8.28	8.43	7.79	7.20	7.57	0.71
F (%)	81.10	68.10	76.63	109.08	124.08	105.42	94.07	21.92

Tabla 53.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y DE de ciprofloxacina tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.17	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.33	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.5	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.75	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
1	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
1.5	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
2	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
3	0.03	0.05	0.02	LOQ	LOQ	0.03	0.04	0.01
4	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.00
6	0.03	0.03	0.03	0.03	LOQ	0.04	0.03	0.01
8	LOQ	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	0.04	0.03	0.01
10	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	0.04	0.04	0.00
24	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
36	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)

IV.3.2.3.- Prueba n° 3: administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de enrofloxacin.

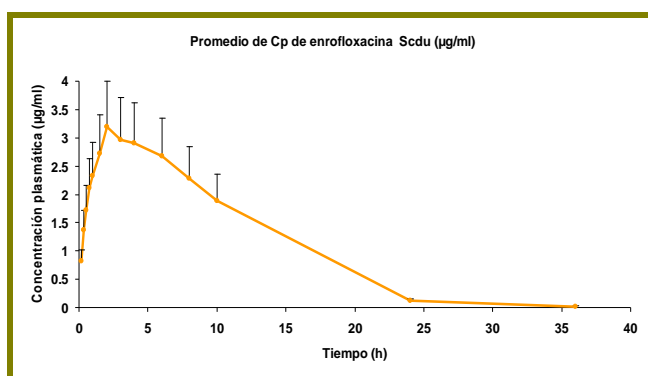
En la tabla 54 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de enrofloxacin; en la gráfica 41 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes; en la tabla 55 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a un modelo no compartimental.

En la tabla 56 se reflejan las concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$), media y DE de ciprofloxacina tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de peso corporal de enrofloxacin.

Tabla 54.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y DE tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0.17	1.45	0.77	0.73	0.24	0.78	0.93	0.82	0.39
0.33	1.70	1.16	1.30	1.02	1.35	1.70	1.37	0.28
0.5	1.96	1.24	1.68	1.44	2.06	1.96	1.72	0.33
0.75	2.50	1.87	1.94	1.66	2.21	2.48	2.11	0.34
1	2.58	2.16	2.27	2.03	2.07	2.88	2.33	0.33
1.5	2.96	-	2.45	2.32	2.35	3.53	2.72	0.52
2	3.18	3.20	2.63	3.40	-	3.58	3.20	0.35
3	3.46	2.60	2.22	2.64	2.92	3.94	2.96	0.63
4	3.37	2.65	2.21	2.58	2.78	3.81	2.90	0.58
6	3.19	2.45	2.45	2.53	2.36	3.12	2.68	0.37
8	2.48	2.02	2.14	2.07	1.84	3.09	2.27	0.45
10	2.27	1.85	1.98	1.79	1.52	1.90	1.89	0.25
24	0.12	0.10	0.12	0.27	0.05	0.07	0.12	0.08
36	0.03	0.05	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	0.02	0.02

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)



Gráfica 41.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin tras la administración de una dosis de 5 mg/kg de pv vía subcutánea en llamas expresadas como media \pm DE, ajustadas a un modelo no compartimental (n=6).

Tabla 55.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
T _{max} (h)	3.00	2.00	2.00	2.00	3.00	3.00	2.50	0.55
C _{max} (µg/ml)	3.46	3.20	2.63	3.40	2.92	3.94	3.26	0.46
AUC _{last} (µg·h/ml)	46.18	37.47	36.63	39.07	33.62	45.29	39.71	5.00
t _{1/2 λ} (h)	4.30	5.13	3.69	4.12	3.80	3.50	4.09	0.59
AUC _∞ (µg·h/ml)	46.35	37.75	37.27	39.19	33.67	45.34	39.93	4.94
Vz(L/kg)	0.67	0.98	0.71	0.76	0.81	0.56	0.75	0.14
Cl (L/kg·h)	0.11	0.13	0.13	0.13	0.15	0.11	0.13	0.02
MRT _{last} (h)	7.44	7.54	7.36	8.36	6.89	6.82	7.40	0.56
MRT _∞ (h)	7.56	7.80	7.74	8.46	6.95	6.86	7.56	0.60
F (%)	91.44	75.70	70.33	101.30	89.22	101.83	88.31	13.00

Tabla 56.- Concentración plasmática (µg/ml), media y DE de ciprofloxacina tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.17	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.33	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.5	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.75	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
1	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
1.5	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
2	LOQ	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.00
3	LOQ	0.03	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	0.03	0.00
4	LOQ	0.03	LOQ	0.03	LOQ	0.04	0.03	0.00
6	LOQ	0.04	0.07	0.03	0.03	0.03	0.04	0.02
8	LOQ	0.03	LOQ	0.03	0.02	0.04	0.03	0.01
10	LOQ	0.03	LOQ	0.03	LOQ	0.03	0.03	0.00
24	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
36	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)

IV.3.2.4.- Prueba nº 4: administración subcutánea de dosis múltiple de 5 mg/kg cada 12 horas de enrofloxacin.

En la tabla 57 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo obtenidas tras la administración subcutánea de dosis múltiple con un total de 9 dosis de 5 mg/kg de peso corporal cada 12 horas de enrofloxacin (las líneas gruesas indican los tiempos en los que se administró cada una de las dosis); en la gráfica 42 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes; en las tablas 58, 59 y 60 se

muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a un modelo no compartimental de la 1ª y 9ª, en este caso calculados hasta la última extracción (84 horas) y a las 12 horas de esta última administración con objeto de poder comparar con la 1ª y 9ª dosis en igualdad de tiempos.

En la tabla 61 se reflejan las concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$), media y DE de ciprofloxacina tras la administración subcutánea de dosis múltiple (9 dosis) de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin.

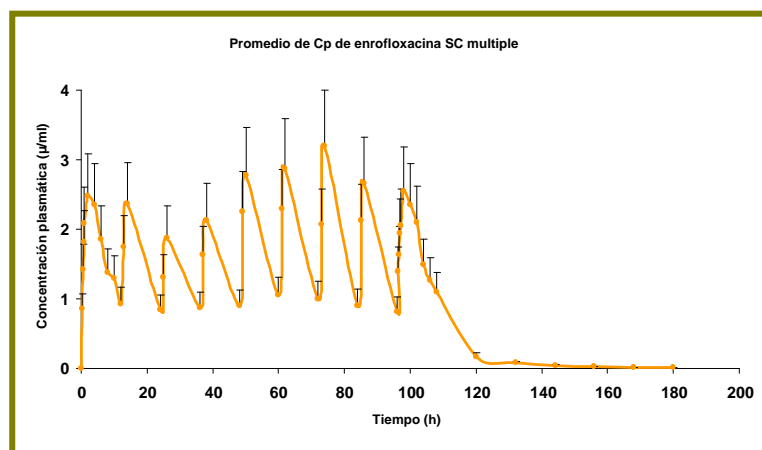
Tabla 57.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y DE tras la administración subcutánea de dosis múltiple (9 dosis) de 5 mg/kg de pv cada 12 horas de enrofloxacin.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0.25	1.68	0.46	1.03	0.18	1.01	0.79	0.86	0.52
0.5	1.92	1.75	1.56	1.04	1.18	1.11	1.43	0.37
0.75	2.60	2.32	1.93	1.31	1.25	1.48	1.81	0.56
1	3.19	2.72	2.29	1.62	1.21	1.48	2.08	0.78
2	3.86	2.74	2.31	1.84	1.61	-	2.47	0.89
4	3.25	2.48	2.99	1.81	1.79	1.79	2.35	0.66
6	2.11	2.30	2.92	1.72	0.33	1.81	1.87	0.87
8	1.56	1.65	1.82	1.57	0.26	-	1.37	0.63
10	1.31	1.11	1.59	1.34	-	1.15	1.30	0.19
12	0.98	0.98	1.32	1.13	0.29	0.90	0.93	0.35
13	2.54	2.51	1.44	2.49	0.22	1.31	1.75	0.94
14	3.15	2.81	1.85	3.36	2.18	0.86	2.37	0.93
24	1.42	0.97	0.42	1.33	0.84	0.11	0.85	0.51
25	2.06	1.44	1.31	1.74	1.01	0.31	1.31	0.61
26	2.09	1.60	1.41	2.32	1.64	2.16	1.87	0.37
36	1.27	1.11	0.37	1.29	1.02	0.21	0.88	0.47
37	2.67	2.44	2.02	1.47	1.01	0.22	1.64	0.93
38	2.69	2.46	2.62	1.71	1.52	1.74	2.12	0.52
48	1.20	0.94	0.24	1.18	0.92	0.95	0.90	0.35
49	2.64	3.22	2.55	2.62	1.49	1.03	2.26	0.82
50	3.33	3.42	3.23	3.32	1.94	1.41	2.78	0.87
60	1.19	0.92	1.00	1.27	0.99	0.92	1.05	0.14
61	3.36	2.27	2.96	1.92	2.15	1.08	2.29	0.80
62	4.03	2.40	3.24	2.81	2.29	2.46	2.87	0.66
72	1.09	0.91	1.08	1.25	0.83	0.86	1.00	0.16
73	-	3.49	2.08	1.95	1.46	1.36	2.07	0.85
74	4.52	4.34	3.26	3.23	2.16	1.72	3.20	1.12
84	1.06	0.35	0.96	1.19	0.87	1.02	0.91	0.30

(Continúa en la página siguiente)

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
85	2.66	1.93	2.16	2.11	1.54	2.34	2.12	0.38
86	3.19	2.13	3.20	2.63	2.12	2.71	2.66	0.48
96	0.85	1.08	0.33	0.96	0.83	0.87	0.82	0.26
96.25	1.70	1.53	1.59	1.39	0.92	1.24	1.39	0.28
96.5	2.22	1.97	1.45	1.47	1.21	1.49	1.64	0.38
96.75	2.52	2.36	2.17	1.59	1.09	1.96	1.95	0.53
97	2.89	2.14	2.30	1.72	1.24	2.07	2.06	0.56
98	3.27	2.27	3.25	2.54	1.38	2.61	2.55	0.70
100	2.75	2.36	3.22	2.13	1.74	1.94	2.36	0.55
102	2.09	1.80	2.97	2.10	2.05	1.59	2.10	0.47
104	1.21	1.56	2.14	1.57	1.15	1.31	1.49	0.36
106	1.35	1.09	1.60	1.48	0.98	1.14	1.27	0.24
108	1.03	1.05	1.57	1.31	0.65	0.99	1.10	0.31
120	0.17	0.14	0.22	0.21	0.14	0.16	0.17	0.03
132	0.11	0.04	0.05	0.13	0.05	0.10	0.08	0.04
144	0.06	0.02	0.05	0.06	LOQ	0.05	0.04	0.02
156	0.04	LOQ	LOQ	0.05	LOQ	LOQ	0.02	0.02
168	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	0.01	0.01
180	LOQ	LOQ	LOQ	0.04	LOQ	LOQ	0.01	0.02

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)



Gráfica 42.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin tras la administración de dosis múltiple (9 dosis) de 5 mg/kg de pv vía subcutánea en llamas expresadas como media \pm DE, ajustadas a un modelo no compartimental (n=6).

Tabla 58.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración de la primera dosis subcutánea de dosis múltiple (9 dosis) de 5 mg/kg de pv cada 12 horas de enrofloxacin (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	2.00	2.00	4.00	2.00	4.00	6.00	3.33	1.63
$C_{max}(\mu g/ml)$	3.86	2.74	2.99	1.84	1.79	1.81	2.51	0.84
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	26.79	23.00	26.00	18.42	9.63	17.51	20.22	6.43
$t_{1/2} \lambda(h)$	5.58	4.69	8.71	8.36	4.19	5.95	6.25	1.88
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	34.74	29.18	42.76	32.04	10.94	25.26	29.15	10.69
$Vz(L/kg)$	1.16	1.16	1.47	1.88	2.76	1.70	1.69	0.60
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.14	0.17	0.12	0.16	0.46	0.20	0.21	0.13
$MRT_{last}(h)$	4.81	5.15	5.57	5.84	3.90	5.64	5.15	0.72
$MRT_{\infty}(h)$	8.30	8.03	13.01	13.58	5.59	10.23	9.79	3.10
F (%)	53.04	46.47	49.92	47.76	25.56	39.36	43.68	9.98

Tabla 59.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración de la novena dosis subcutánea de dosis múltiple (9 dosis) de 5 mg/kg de pv cada 12 horas de enrofloxacin (cálculo a las 84 horas) (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	2.00	0.75	2.00	2.00	6.00	2.00	2.46	1.81
$C_{max}(\mu g/ml)$	3.27	2.36	3.25	2.54	2.05	2.61	2.68	0.49
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	35.29	29.81	42.27	35.74	22.60	29.35	32.51	6.77
$t_{1/2} \lambda(h)$	8.93	7.39	7.31	10.79	7.51	8.00	8.32	1.35
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	35.60	29.84	42.31	36.05	22.67	29.40	32.64	6.81
$Vz(L/kg)$	1.81	1.79	1.25	2.16	2.39	1.96	1.89	0.39
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.14	0.17	0.12	0.14	0.22	0.17	0.16	0.04
$MRT_{last}(h)$	10.77	8.96	9.14	12.59	9.41	10.61	10.25	1.38
$MRT_{\infty}(h)$	11.53	9.05	9.19	13.34	9.61	10.75	10.58	1.66
F (%)	69.87	60.22	81.17	92.67	59.97	66.00	71.65	12.92

Tabla 60.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar tras la administración de la novena dosis subcutánea de dosis múltiple (9 dosis) de 5 mg/kg de pv cada 12 horas de enrofloxacin (cálculo a las 12 horas) (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	2.00	0.75	2.00	2.00	6.00	2.00	2.46	1.81
$C_{max}(\mu g/ml)$	3.27	2.36	3.25	2.54	2.05	2.61	2.68	0.49
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	24.14	20.86	29.03	21.86	20.86	19.31	22.68	3.50
$t_{1/2} \lambda(h)$	5.75	6.53	6.73	10.29	5.20	9.82	7.39	2.14
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	32.21	30.10	43.18	40.97	21.90	33.32	33.61	7.71
$Vz(L/kg)$	1.29	1.57	1.13	1.81	1.71	2.13	1.61	0.36
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.16	0.17	0.12	0.12	0.23	0.15	0.16	0.04
$MRT_{last}(h)$	4.90	5.21	5.45	5.57	7.50	5.17	5.63	0.94
$MRT_{\infty}(h)$	8.75	10.19	10.78	15.49	8.65	14.00	11.31	2.82
F (%)	47.81	42.14	55.75	56.69	55.35	43.43	50.19	6.57

Tabla 61.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y DE de ciprofloxacina tras la administración subcutánea de dosis múltiple (9 dosis) de 5 mg/kg de pv de enrofloxacin.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0.25	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.5	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.75	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
1	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
2	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
4	0.03	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.00
6	0.03	LOQ	0.04	LOQ	LOQ	LOQ	0.04	0.00
8	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
10	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
12	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
13	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
14	0.03	0.03	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	0.03	0.00
24	LOQ	LOQ	0.06	LOQ	LOQ	LOQ	0.06	0.00
25	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
26	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
36	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
37	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.00
38	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.00
48	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
49	0.03	0.03	0.03	0.03	LOQ	LOQ	0.03	0.00
50	0.04	0.04	0.04	0.03	LOQ	LOQ	0.04	0.00
60	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
61	0.03	0.03	0.04	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.01
62	0.04	0.03	0.03	0.03	LOQ	LOQ	0.03	0.00
72	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
73	LOQ	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.00
74	0.04	0.05	0.05	LOQ	LOQ	LOQ	0.05	0.01
84	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
85	0.03	LOQ	0.03	0.03	LOQ	LOQ	0.03	0.00
86	0.04	0.03	0.05	LOQ	0.03	0.03	0.04	0.01
96	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
96.25	LOQ	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.00
96.5	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
96.75	0.03	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.00
97	0.03	0.03	0.04	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.01
98	0.04	0.03	0.04	LOQ	LOQ	0.03	0.04	0.01
100	0.05	0.05	0.05	0.03	LOQ	0.03	0.04	0.01
102	0.04	0.03	0.05	0.03	LOQ	0.03	0.04	0.01
104	LOQ	0.03	0.04	0.03	LOQ	LOQ	0.03	0.01
106	0.03	LOQ	0.04	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.01
108	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
120	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
132	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
144	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
156	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
168	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
180	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)

IV.3.2.5.- Prueba n° 5: administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de enrofloxacin LA.

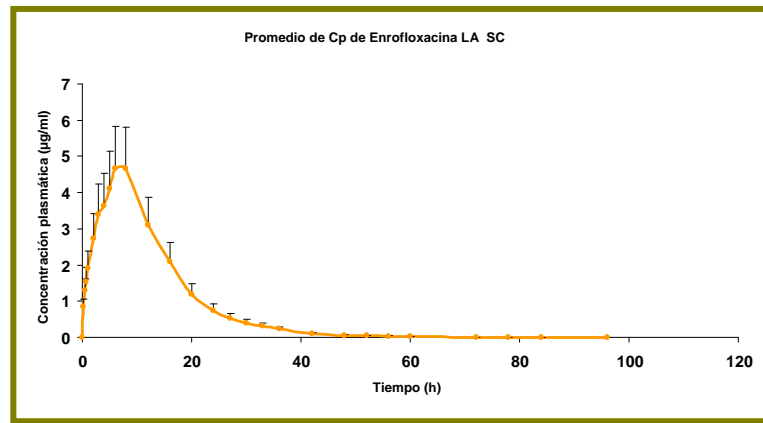
En la tabla 62 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de peso corporal de enrofloxacin LA; en la gráfica 43 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes; en la tabla 63 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a un modelo no compartimental.

En la tabla 64 se reflejan las concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$), media y DE de ciprofloxacina tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de pv de enrofloxacin LA.

Tabla 62.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y desviación estándar, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de pv de enrofloxacin LA (modelo no compartimental).

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0.25	0.85	0.85	1.14	0.46	0.92	0.84	0.84	0.22
0.5	1.28	1.01	1.73	1.16	1.40	1.16	1.29	0.25
0.75	1.56	1.28	2.02	1.54	1.60	1.25	1.54	0.28
1	1.80	1.51	2.59	1.66	2.32	1.57	1.91	0.44
2	2.74	2.15	4.08	2.67	2.77	2.02	2.74	0.73
3	3.38	2.89	4.44	3.37	3.93	2.41	3.40	0.72
4	3.57	3.06	4.81	3.64	3.95	2.75	3.63	0.72
5	4.43	3.33	4.91	4.48	4.25	3.26	4.11	0.67
6	-	3.53	5.00	5.30	5.44	4.02	4.66	0.84
8	4.92	3.92	4.82	5.64	4.05	4.59	4.66	0.63
12	4.05	2.21	3.07	4.24	2.36	2.67	3.10	0.86
16	2.88	1.59	1.86	2.95	1.59	1.69	2.09	0.64
20	1.83	1.33	1.07	1.56	1.04	0.35	1.20	0.51
24	1.30	1.15	0.34	1.17	0.29	0.21	0.75	0.51
27	1.09	0.36	0.28	1.01	0.26	0.22	0.54	0.40
30	1.09	0.22	0.19	0.47	0.22	0.20	0.40	0.35
33	1.05	0.16	0.16	0.35	0.11	0.09	0.32	0.37
36	0.84	0.08	0.11	0.27	0.07	0.09	0.24	0.30
42	0.26	0.03	0.06	0.17	0.06	0.07	0.11	0.09
48	0.12	LOQ	0.02	0.13	0.03	0.03	0.06	0.05
52	0.10	LOQ	0.02	0.11	0.02	LOQ	0.05	0.05
56	0.08	LOQ	0.02	0.09	0.02	0.02	0.04	0.04
60	0.03	LOQ	0.02	0.08	LOQ	0.02	0.03	0.03
72	0.02	LOQ	LOQ	0.02	LOQ	LOQ	0.00	0.01
78	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
84	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
96	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)



Gráfica 43.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin LA tras la administración de una dosis de 15 mg/kg de pv vía subcutánea en llamas expresadas como media \pm DE, ajustadas a un modelo no compartimental (n=6).

Tabla 63.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de pv de enrofloxacin LA (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	8.00	8.00	6.00	8.00	6.00	8.00	7.33	1.03
$C_{max}(\mu g/ml)$	4.92	3.92	5.00	5.64	5.44	4.59	4.92	0.62
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	94.22	57.58	71.31	90.32	61.46	54.47	71.56	17.06
$t_{1/2 \lambda}(h)$	10.54	6.51	7.06	10.67	7.15	7.76	8.28	1.85
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	94.75	57.72	71.43	90.82	61.58	54.52	71.80	17.26
$Vz(L/kg)$	2.41	2.44	2.14	2.54	2.51	3.08	2.52	0.31
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.16	0.26	0.21	0.17	0.24	0.28	0.22	0.05
$MRT_{last}(h)$	15.27	11.59	10.03	13.90	10.13	10.53	11.91	2.19
$MRT_{\infty}(h)$	15.74	11.71	10.14	14.44	10.24	10.60	12.15	2.38
$F(\%)$	62.19	38.78	45.64	78.07	54.37	40.83	53.31	14.96

Tabla 64.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y DE de ciprofloxacina tras la administración subcutánea de una dosis de 15 mg/kg de pv de enrofloxacin LA.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.25	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.5	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.75	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
1	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
2	LOQ	LOQ	0.04	LOQ	LOQ	LOQ	0.04	0.00
3	LOQ	LOQ	0.06	LOQ	LOQ	LOQ	0.06	0.00
4	LOQ	LOQ	0.06	LOQ	LOQ	LOQ	0.06	0.00
5	LOQ	LOQ	0.07	0.03	LOQ	LOQ	0.05	0.03
6	LOQ	LOQ	0.05	0.03	0.04	0.03	0.04	0.01
8	LOQ	0.03	0.06	0.04	0.03	0.03	0.04	0.02
12	LOQ	LOQ	0.05	0.03	0.02	LOQ	0.03	0.01
16	LOQ	LOQ	0.03	0.03	LOQ	LOQ	0.03	0.00
20	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
24	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
27	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
30	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
33	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
36	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
42	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
48	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
52	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
56	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
60	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
72	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
78	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
84	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
96	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)

IV.3.2.6.- Prueba n° 6: administración subcutánea de dosis múltiple de 15 mg/kg cada 72 horas de enrofloxacin LA.

En la tabla 65 se reflejan las concentraciones plasmáticas, media y desviación estándar en función del tiempo obtenidas tras la administración subcutánea de dosis múltiple con un total de 2 dosis de 15 mg/kg de peso corporal cada 72 horas de enrofloxacin LA (la línea gruesa indica el tiempo en el que se administró la segunda dosis); en la gráfica 44 se muestra la evolución de las concentraciones plasmáticas correspondientes; en las tablas 66, 67 y 68 se muestran los parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, ajustados a un modelo no compartimental de la 1ª y 2ª dosis, en este caso calculados hasta la

última extracción (120 horas) y a las 72 horas de esta última administración con objeto de poder comparar con la 1ª y 2ª dosis en igualdad de tiempos.

En la tabla 69 se reflejan las concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$), media y DE de ciprofloxacina tras la administración subcutánea de dosis múltiple (2 dosis) de 15 mg/kg de pv de enrofloxacin LA.

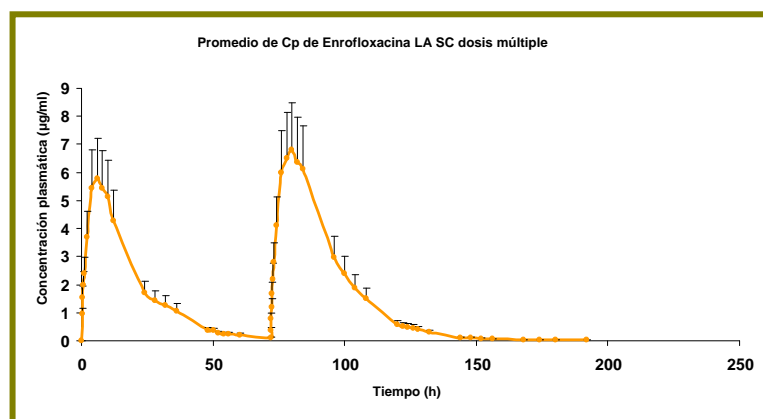
Tabla 65.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y desviación estándar tras la administración subcutánea de dosis múltiple (2 dosis) de 15 mg/kg de pv cada 72 horas de enrofloxacin LA.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0.25	0.40	1.11	1.13	0.22	1.85	0.94	0.94	0.59
0.5	1.27	1.52	1.69	1.16	2.44	1.24	1.55	0.48
0.75	1.62	2.08	1.85	1.63	2.87	1.76	1.97	0.47
1	1.96	2.46	2.62	1.91	3.33	2.02	2.38	0.55
2	3.32	3.81	5.11	2.60	4.31	3.03	3.69	0.91
4	4.42	5.19	9.08	4.59	5.02	4.34	5.44	1.82
6	4.99	5.13	9.63	5.22	4.89	4.79	5.78	1.89
8	6.12	3.77	7.78	5.63	4.43	4.83	5.43	1.42
10	6.34	3.12	7.45	5.29	3.67	4.96	5.14	1.62
12	5.36	2.94	5.96	2.68	3.32	5.45	4.28	1.46
24	2.06	1.06	1.94	1.66	1.44	2.10	1.71	0.41
28	1.48	0.89	1.57	1.41	1.32	1.87	1.42	0.32
32	1.26	0.88	1.40	1.19	1.19	1.77	1.28	0.29
36	0.97	0.71	1.01	1.04	1.17	1.43	1.05	0.24
48	0.24	0.22	0.32	0.34	0.34	0.87	0.39	0.24
50	0.21	0.19	0.31	0.30	0.36	0.80	0.36	0.22
52	0.20	0.16	0.25	0.32	0.33	0.31	0.26	0.07
54	0.18	0.15	0.28	0.29	0.32	0.31	0.25	0.07
56	0.16	0.19	0.25	0.28	0.30	0.27	0.24	0.06
60	0.13	0.16	0.16	0.27	0.27	0.26	0.21	0.07
72	0.06	0.07	0.08	0.20	0.14	0.14	0.12	0.05
72.08	0.20	0.44	0.22	0.35	0.91	0.24	0.39	0.27
72.17	0.36	1.00	1.00	0.87	1.17	0.36	0.79	0.35
72.25	0.95	1.15	1.23	1.12	1.73	1.00	1.20	0.28
72.5	1.40	1.49	1.57	1.86	2.45	1.26	1.67	0.43
72.75	1.79	2.09	2.10	2.52	3.05	1.69	2.21	0.50
73	2.14	2.43	3.80	3.03	3.42	2.00	2.80	0.73
74	3.28	3.91	5.66	4.97	3.71	3.16	4.11	1.00
76	4.86	4.63	6.09	8.09	7.45	4.78	5.98	1.49
78	6.15	4.48	5.92	9.16	7.47	5.92	6.52	1.61
80	6.70	3.65	4.92	10.85	8.17	6.50	6.80	2.52
82	6.80	3.13	4.46	9.44	8.52	5.94	6.38	2.39
84	7.26	2.81	4.17	9.09	8.29	5.22	6.14	2.47

(Continúa en la página siguiente)

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
96	3.33	1.14	2.12	4.54	3.97	2.75	2.98	1.24
100	3.00	0.97	1.89	3.24	2.81	2.49	2.40	0.84
104	2.39	0.36	1.44	2.61	2.35	2.12	1.88	0.85
108	1.85	0.25	1.22	2.24	1.79	1.67	1.50	0.69
120	0.99	0.12	0.33	1.14	0.39	0.51	0.58	0.40
122	0.89	0.11	0.33	1.04	0.34	0.45	0.53	0.36
124	0.86	0.10	0.28	0.98	0.30	0.37	0.48	0.36
126	0.84	0.08	0.30	0.92	0.25	0.32	0.45	0.34
128	0.76	0.08	0.25	0.85	0.23	0.32	0.42	0.31
132	0.75	0.07	0.22	0.34	0.17	0.23	0.30	0.24
144	0.14	0.04	0.13	0.17	0.06	0.13	0.11	0.05
148	0.15	0.04	0.09	0.13	0.06	0.12	0.10	0.04
152	0.11	0.03	0.08	0.10	0.04	0.10	0.08	0.03
156	0.10	0.03	0.06	0.04	0.03	0.08	0.06	0.03
168	0.06	0.02	0.04	0.02	LOQ	0.05	0.03	0.02
174	0.05	0.02	0.03	0.02	LOQ	0.06	0.03	0.02
180	0.04	0.02	LOQ	0.02	-	0.05	0.03	0.02
192	0.03	LOQ	-	LOQ	-	0.03	0.02	0.01

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)



Gráfica 44.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacina LA tras la administración de dosis múltiple (2 dosis) de 15 mg/kg de pv vía subcutánea en llamas expresadas como media \pm DE, ajustadas a un modelo no compartimental (n=6).

Tabla 66.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración de la primera dosis subcutánea de dosis múltiple (2 dosis) de 15 mg/kg de pv cada 72 horas de enrofloxacin LA (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	10.00	4.00	6.00	8.00	4.00	12.00	7.33	3.27
$C_{max}(\mu g/ml)$	6.34	5.19	9.63	5.63	5.02	5.45	6.21	1.74
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	128.23	89.43	162.01	106.42	108.82	138.27	122.20	26.01
$t_{1/2} \lambda(h)$	12.08	10.95	9.44	12.42	12.58	17.06	12.42	2.56
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	129.36	90.54	162.94	108.59	111.01	141.84	124.05	26.03
$V_z(L/kg)$	2.02	2.62	1.25	2.48	2.45	2.60	2.24	0.53
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.12	0.17	0.09	0.14	0.14	0.11	0.13	0.03
$MRT_{last}(h)$	15.92	15.31	14.49	18.12	17.56	19.22	16.77	1.82
$MRT_{\infty}(h)$	16.56	16.21	14.89	19.56	19.00	21.17	17.90	2.38
F (%)	84.64	60.22	103.70	91.99	96.26	103.63	122.20	26.01

Tabla 67.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración de la segunda dosis subcutánea de dosis múltiple (2 dosis) de 15 mg/kg de pv cada 72 horas de enrofloxacin LA (cálculo a las 120 horas) (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	12.00	4.00	4.00	8.00	10.00	8.00	7.67	3.20
$C_{max}(\mu g/ml)$	7.26	4.63	6.09	10.85	8.52	6.50	7.31	2.16
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	194.87	80.08	133.53	249.50	205.27	156.21	169.91	59.64
$t_{1/2} \lambda(h)$	20.64	18.10	8.12	13.85	5.06	26.46	15.37	7.99
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	195.72	80.30	133.64	249.69	205.29	157.46	170.35	59.64
$V_z(L/kg)$	2.28	4.88	1.31	1.20	0.53	3.64	2.31	1.66
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.08	0.19	0.11	0.06	0.07	0.10	0.10	0.05
$MRT_{last}(h)$	21.84	14.27	17.90	19.20	17.01	20.12	18.39	2.63
$MRT_{\infty}(h)$	22.39	14.63	17.98	19.29	17.02	21.21	18.75	2.84
F (%)	128.62	53.93	85.47	215.66	181.60	117.08	169.91	59.65

Tabla 68.- Parámetros farmacocinéticos, media y desviación estándar, tras la administración de la segunda dosis subcutánea de dosis múltiple (2 dosis) de 15 mg/kg de pv cada 72 horas de enrofloxacin LA (cálculo a las 72 horas) (modelo no compartimental).

Parámetros	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
$T_{max}(h)$	12.00	4.00	4.00	8.00	10.00	8.00	7.67	3.20
$C_{max}(\mu g/ml)$	7.26	4.63	6.09	10.85	8.52	6.50	7.31	2.16
$AUC_{last}(\mu g \cdot h/ml)$	191.37	78.97	131.53	247.24	204.42	152.97	167.75	59.39
$t_{1/2} \lambda(h)$	8.25	15.57	17.00	7.61	9.12	12.53	11.68	3.98
$AUC_{\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	193.49	79.85	134.79	248.97	205.27	155.25	169.61	59.35
$V_z(L/kg)$	0.92	4.22	2.73	0.66	0.96	1.75	1.87	1.38
$Cl(L/kg \cdot h)$	0.08	0.19	0.11	0.06	0.07	0.10	0.10	0.05
$MRT_{last}(h)$	20.61	13.21	16.89	18.60	16.74	18.63	17.45	2.51
$MRT_{\infty}(h)$	21.30	14.10	18.82	19.05	17.03	19.68	18.33	2.49
F (%)	126.31	53.18	84.18	213.71	180.84	114.65	167.75	59.39

Tabla 69.- Concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), media y DE de ciprofloxacina tras la administración subcutánea de dosis múltiple (2 dosis) de 15 mg/kg de pv de enrofloxacin LA.

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
0.00	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.25	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.50	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
0.75	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
1	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.00
2	LOQ	0.06	LOQ	LOQ	0.04	LOQ	0.05	0.01
4	0.03	0.07	0.04	0.03	0.06	LOQ	0.05	0.02
6	0.04	0.05	0.06	0.05	0.07	LOQ	0.06	0.01
8	0.06	0.05	0.05	0.06	0.07	0.02	0.05	0.02
10	0.06	0.06	0.05	0.06	0.07	0.02	0.05	0.02
12	0.07	0.27	0.06	0.02	0.06	0.03	0.09	0.09
24	0.05	LOQ	0.04	0.03	0.03	LOQ	0.04	0.01
28	0.03	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	LOQ	0.03	0.00
32	0.02	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	0.02	0.00
36	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
48	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
50	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
52	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
54	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
56	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
60	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
72	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
72.08	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
72.17	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
72.25	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
72.50	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
72.75	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
73	LOQ	0.03	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	0.03	0.00
74	LOQ	0.04	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	0.04	0.00
76	0.04	0.04	0.03	0.04	0.07	0.03	0.04	0.01
78	0.05	0.05	0.03	0.07	0.12	0.04	0.06	0.03
80	0.08	0.05	0.02	0.07	0.13	0.05	0.07	0.04
82	0.09	0.04	0.03	0.07	0.14	0.05	0.07	0.04
84	0.08	LOQ	0.04	0.08	0.12	0.04	0.07	0.03
96	0.06	LOQ	LOQ	0.05	0.07	0.03	0.05	0.02
100	0.05	LOQ	LOQ	0.05	0.05	0.02	0.04	0.01
104	0.05	LOQ	LOQ	0.04	0.07	0.02	0.05	0.02
108	0.04	LOQ	LOQ	0.03	0.05	LOQ	0.04	0.01
120	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ

(Continúa en la página siguiente)

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
122	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
124	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
126	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
128	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
132	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
144	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
148	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
152	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
156	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
168	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
174	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
180	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
192	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ

(LOQ: por debajo del límite de cuantificación)

IV.3.3.- Resultados estadísticos

IV.3.3.1.- Marbofloxacina

En las tablas 70, 71, 72, 73, 74, 75 y 76 se muestran los resultados obtenidos tras la realización de un estudio de análisis de varianza, T de Student (Duncan y prueba T de correlación de muestras relacionadas). El nivel de significación fue $p < 0,05$.

Si analizamos por parámetros cinéticos (en rojo los que presentan diferencias significativas) podemos comprobar que:

AUC_{last} y AUC_{∞} : presentan diferencias entre las subcutáneas múltiples 3^a dosis con la 5^a dosis tanto a 24 horas como a tiempo final (84 horas) según la prueba T. También son diferentes significativamente las subcutáneas múltiples 5^a dosis a las 24 horas y a tiempo final (84 horas) según la prueba Duncan. La subcutánea múltiple 5^a dosis a las 24 horas y a tiempo final (84 horas) presentan esas diferencias tanto según la prueba T como la prueba Duncan.

Tabla 70.- Diferencias estadísticas del área bajo la curva final y el área bajo la curva infinito entre las distintas vías y dosis.

AUC_{last}	IV	IM	SCdu	SCdm 1 ^a d	SCdm 3 ^a d	SCdm 5 ^a d(24h)	SCdm 5 ^a d(TF)
IV							
IM	N						
SC du	N	N					
SC dm 1 ^a d	N	N	N		0,149	0,164	0,166
SC dm 3 ^a d	N	N	N	0,226		0,023	0,031
SC dm 5 ^a d (24h)	N	N	N	0,311	0,970		0,000
SC dm 5 ^a d (TF)	N	N	N	0,964	0,169	0,000	

(Continúa en la página siguiente)

AUC _∞	IV	IM	SCdu	SCdm 1 ^a d	SCdm 3 ^a d	SCdm 5 ^a d(24h)	SCdm 5 ^a d(TF)
IV							
IM	N						
SC du	N	N					
SC dm 1 ^a d	N	N	N		0,173	0,151	0,154
SC dm 3 ^a d	N	N	N	0,170		0,043	0,038
SC dm 5 ^a d (24h)	N	N	N	0,239	0,844		0,000
SC dm 5 ^a d (TF)	N	N	N	0,533	0,372	0,012	

C_{max} : La vía intravenosa es la única vía que presenta diferencias significativas con el resto (intramuscular, subcutánea dosis única, subcutánea múltiple 1^a, 3^a, 5^a dosis a las 24 horas y 5^a dosis a tiempo final), no teniendo el resto diferencias entre sí (Duncan).

Tabla 71.- Diferencias estadísticas de la concentración máxima entre las distintas vías y dosis.

C _{max}	IV	IM	SCdu	SCdm 1 ^a d	SCdm 3 ^a d	SCdm 5 ^a d(24h)	SCdm 5 ^a d(TF)
IV							
IM	S						
SC du	S	N					
SC dm 1 ^a d	S	N	N		0,232	0,188	0,188
SC dm 3 ^a d	S	N	N	0,741		0,436	0,436
SC dm 5 ^a d (24h)	S	N	N	0,235	0,185		
SC dm 5 ^a d (TF)	S	N	N	0,235	0,185		

T_{max} : No se han encontrado diferencias significativas en los valores de las diferentes vías (y administraciones) utilizadas.

Tabla 72.- Diferencias estadísticas de tiempo máximo entre las distintas vías y dosis.

T _{max}	IM	SCdu	SCdm 1 ^a d	SCdm 3 ^a d	SCdm 5 ^a d(24h)	SCdm 5 ^a d(TF)
IM						
SC du	N					
SC dm 1 ^a d	N	N		0,328	0,932	0,932
SC dm 3 ^a d	N	N	1		0,794	0,794
SC dm 5 ^a d (24h)	N	N	1	1		
SC dm 5 ^a d (TF)	N	N	1	1		

$t_{1/2\lambda}$: La vía intramuscular presenta diferencias significativas con el resto de las vías y administraciones. A su vez en la subcutánea múltiple 5^a dosis a tiempo final (84 horas) es significativamente diferente, tanto a la intramuscular como a las subcutánea dosis única, y subcutánea múltiple 1^a, 3^a y 5^a dosis a las 24 horas (Duncan). Esta última diferencia entre la subcutánea múltiple 5^a dosis a tiempo final (84 horas) y 5^a dosis a las 24 horas, también se especifica con la prueba T.

Tabla 74.- Diferencias estadísticas de la semivida de eliminación entre las distintas vías y dosis.

$t_{1/2\lambda}$	IV	IM	SCdu	SCdm 1ªd	SCdm 3ªd	SCdm 5ªd(24h)	SCdm 5ªd(TF)
IV							
IM	N						
SC du	S	S					
SC dm 1ª d	S	S	N		0,506	0,299	0,510
SC dm 3ª d	S	S	N	0,611		0,031	0,789
SC dm 5ª d (24h)	S	S	N	0,296	0,102		0,481
SC dm 5ª d (TF)	S	S	S	0,000	0,000	0,000	

MRT_{last} y MRT_{∞} : Los tiempos medios de residencia presentan las mismas diferencias significativas; la vía subcutánea múltiple 5ª dosis tiempo final (84 horas) con todas las vías y administraciones. Además el tiempo medio de residencia final presenta también diferencias con la 3ª dosis de la subcutánea múltiple (Duncan).

Tabla 76.- Diferencias estadísticas del tiempo medio de residencia, final e infinito, entre las distintas vías y dosis.

MRT_{last}	IV	IM	SCdu	SCdm 1ªd	SCdm 3ªd	SCdm 5ªd(24h)	SCdm 5ªd(TF)
IV							
IM	N						
SC du	N	N					
SC dm 1ª d	N	N	N		0,196	0,196	0,460
SC dm 3ª d	N	N	S	0,025		0,312	0,355
SC dm 5ª d (24h)	N	N	N	0,175	0,175		1,000
SC dm 5ª d (TF)	S	S	S	0,001	0,000	0,000	

MRT_{∞}	IV	IM	SCdu	SCdm 1ªd	SCdm 3ªd	SCdm 5ªd(24h)	SCdm 5ªd(TF)
IV							
IM	N						
SC du	N	N					
SC dm 1ª d	N	N	N		0,261	0,171	0,399
SC dm 3ª d	N	N	N	0,013		0,656	0,121
SC dm 5ª d (24h)	N	N	N	0,203	0,175		0,174
SC dm 5ª d (TF)	S	S	S	0,002	0,000	0,000	

IV.3.3.2.- Enrofloxacin

En las tablas 77, 78, 79, 80, 81, 82 y 83 se muestran los resultados obtenidos tras la realización de un estudio de análisis de varianza, T de Student (Duncan y prueba T de correlación de muestras relacionadas). El nivel de significación fue $p < 0,05$.

Si analizamos por parámetros cinéticos (en rojo los que presentan diferencias significativas) podemos comprobar que:

AUC_{last} y AUC_{∞} : para ambas áreas bajo la curva, las vías intravenosa e intramuscular presentan diferencias con todas las dosis y administraciones de la subcutánea múltiple, y la subcutánea múltiple 9ª dosis a tiempo final (84 horas) es diferente a todas las vías y administraciones (Duncan). Por la T de muestras relacionadas también se ven diferencias entre los dos estudios de la 9ª dosis de la subcutánea múltiple (a las 12 y 84 horas).

AUC_{last} presenta diferencias de la subcutánea dosis única con todas las múltiples mientras que AUC_{∞} sólo las tiene frente a la 1ª y 9ª dosis a las 84 horas de la subcutánea múltiple (Duncan) y la 1ª dosis de la subcutánea múltiple según la T de muestras relacionadas se diferencia de la 9ª dosis a las 24 y 84 horas de la subcutánea múltiple.

Tabla 77.- Diferencias estadísticas de las áreas bajo la curva, final e infinito, entre las distintas vías y dosis.

AUC_{last}	IV	IM	SCdu	SCdm 1ªd	SCdm 9ªd (12 h)	SCdm 9ªd (TF)
IV						
IM	N					
SC du	N	N				
1º SC dm	S	S	S		0,190	0,064
SC dm 9ª d (12 h)	S	S	S	0,276		0,038
SC dm 9ª d (TF)	S	S	S	0,001	0,002	
AUC_{∞}	IV	IM	SCdu	SCdm 1ªd	SCdm 9ªd (12 h)	SCdm 9ªd (TF)
IV						
IM	N					
SC du	N	N				
1º SC dm	S	S	S		0,011	0,002
SC dm 9ª d (12 h)	S	S	N	0,095		0,006
SC dm 9ª d (TF)	S	S	S	0,151	0,415	

C_{max} : Se han encontrado diferencias de la vía intravenosa con el resto de las vías a excepción de la subcutánea múltiple 9ª dosis a tiempo final (84 horas) (Duncan). Las diferencias entre las subcutáneas múltiples 9ª dosis a las 24 y 84 horas con la subcutánea múltiple 1ª dosis se indican tanto a través de Duncan como de T de muestras relacionadas.

Tabla 78.- Diferencias estadísticas de la concentración máxima entre las distintas vías y dosis.

C_{max}	IV	IM	SCdu	SCdm 1ªd	SCdm 9ªd (12 h)	SCdm 9ªd (TF)
IV						
IM	S					
SC du	S	N				
1º SC dm	S	N	N		0,061	0,061
SC dm 9ª d (12 h)	S	N	N	0,025		
SC dm 9ª d (TF)	N	N	N	0,025		

T_{max} : no se han observado diferencias significativas entre ninguna de las vías y administraciones (intramuscular, subcutánea dosis única, subcutánea múltiple 1ª, 9ª dosis 12 horas y 9ª dosis tiempo final).

Tabla 79.- Diferencias estadísticas del tiempo máximo entre las distintas vías y dosis.

T_{max}	IM	SCdu	SCdm 1ªd	SCdm 9ªd (12 h)	SCdm 9ªd (TF)
IM					
SC du	N				
1º SC dm	N			0,520	0,420
SC dm 9ª d (12 h)	N	N	0,296		
SC dm 9ª d (TF)	N	N	0,296		

$t_{1/2\lambda}$: las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea dosis única no presentan diferencias significativas entre ellas pero sí con la obtenida en todas las subcutáneas múltiples.

Tabla 82.- Diferencias estadísticas de la semivida de eliminación entre las distintas vías y dosis.

$t_{1/2\lambda}$	IV	IM	SCdu	SCdm 1ªd	SCdm 9ªd (12 h)	SCdm 9ªd (TF)
IV						
IM	N					
SC du	N	N				
1º SC dm	S	S	S		0,246	0,905
SC dm 9ª d (12 h)	S	S	S	0,275		0,851
SC dm 9ª d (TF)	S	S	S	0,074	0,133	

MRT_{last} y MRT_{∞} : La vía intravenosa presenta diferencias con todas (excepto el MRT_{last} que no presenta esa diferencia con la subcutánea múltiple 1ª dosis) y las vías intramuscular y subcutánea dosis única no presentan diferencias entre ellas pero sí con todas las dosis y tiempos de la subcutánea múltiple. También hay diferencia en el MRT_{last} entre las distintas dosis y tiempos (12 y 84 horas) de la subcutánea múltiple.

Tabla 83.- Diferencias estadísticas del tiempo medio de residencia, final e infinito, entre las distintas vías y dosis.

MRT _{last}	IV	IM	SCdu	SCdm 1 ^a d	SCdm 9 ^a d (12 h)	SCdm 9 ^o d (TF)
IV						
IM	S					
SC du	S	N				
1 ^o SC dm	N	S	S		0,201	0,740
SC dm 9 ^a d (12 h)	S	S	S	0,363		0,635
SC dm 9 ^o d (TF)	S	S	S	0,000	0,002	

MRT _∞	IV	IM	SCdu	SCdm 1 ^a d	SCdm 9 ^a d (12 h)	SCdm 9 ^o d (TF)
IV						
IM	S					
SC du	S	N				
1 ^o SC dm	S	S	S		0,071	0,221
SC dm 9 ^a d (12 h)	S	S	S	0,419		0,173
SC dm 9 ^o d (TF)	S	S	S	0,797	0,597	

Enrofloxacin LA

La administración de enrofloxacin LA no presenta diferencias significativas entre la administración única y la 1^a, 2^a dosis a las 72 horas y tiempo final (120 horas).

IV.3.4.- Resultados PK/PD

IV.3.4.1.- Marbofloxacin

Para la realización del estudio de los índices farmacocinéticos /farmacodinámicos se utilizaron los datos de Concentraciones Inhibitorias Mínimas MIC₉₀ aportados por Meunier y col., en 2004 en bovino, ya que no encontramos dichos valores en llamas. Estos valores hacen referencia a infecciones intestinales (*Salmonella spp* = 0,073 µg/ml) y respiratorias (*Mannheimia haemolytica* = 0,42 µg/ml y *Pasteurella multocida* = 0,56 µg/ml), bacterias responsables de la mayoría de los procesos infecciosos en llamas.

En la tabla 84 se muestran los resultados obtenidos para estos índices utilizando los valores de C_{max} tras la administración de marbofloxacin vía IM y SC y C₀ tras la administración de marbofloxacin vía IV y los valores de AUC_{0-∞} de las diferentes vías.

Tabla 84.- Predictores de eficacia (C_{max}/MIC y $AUC_{0-\infty}/MIC$) estimados para marbofloxacina (5 mg/kg) administrada por vía IV, IM y SC en dosis única, frente a bacterias aisladas en procesos infecciosos digestivos y respiratorios en bovino.

Bacteria	MIC ₉₀ (µg/ml)	IV		IM		SC	
		C_{max}/MIC	$AUC_{0-\infty}/MIC$	C_{max}/MIC	$AUC_{0-\infty}/MIC$	C_{max}/MIC	$AUC_{0-\infty}/MIC$
<i>Salmonella spp</i>	0,073 ¹	221	812	102	920	95	1101
<i>M. haemolytica</i>	0,42 ¹	38	141	18	160	17	191
<i>P. multocida</i>	0,56 ¹	29	106	13	120	12	144

¹bovinos (Meunier y col., 2004)

Para el cálculo de los índices AUC/MPC y tiempo en que las concentraciones están por encima de la MPC ($T_{>MPC}$), como porcentaje de tiempo en 24 horas (intervalo de dosis), se han empleado los valores de MPC de marbofloxacina publicados por Kesteman y col., en 2009 para *Klebsiella pneumoniae* = 0,512 µg/ml en ratas, por Wezstein, H.G., en 2005 para *Escherichia coli* = 0,35 µg/ml y para *Salmonella spp* = 0,73 µg/ml ($0,073 \times 10$) estimados para tratamientos con 5 mg/kg de marbofloxacina por las diferentes vías de administración: IV, IM, SC dosis única y SC dosis múltiple.

En la tabla 85 se muestran los resultados obtenidos para estos índices utilizando los valores de $AUC_{0-\infty}$ tras la administración de marbofloxacina vía IV, IM y SC en dosis única y SC en dosis múltiple tras la tercera y quinta administración.

Tabla 85.- Estimación de los índices de prevención de mutaciones AUC/MPC y $T_{>MPC}$ para marbofloxacina (5 mg/kg) administrada por vía IV, IM y SC en dosis única y SC dosis múltiple (tercera y quinta dosis), frente a bacterias aisladas en procesos infecciosos digestivos y respiratorios de especies no rumiantes.

Bacteria	MPC µg/ml	IV		IM		SC		SC 3ª dosis		SC 5ª dosis	
		$T_{>MPC}$ (% _{024h})	AUC/ MPC	$T_{>MPC}$ (% _{024h})	AUC/ MPC	$T_{>MPC}$ (% _{024h})	AUC/ MPC	$T_{>MPC}$ (% _{024h})	AUC/ MPC	$T_{>MPC}$ (% _{024h})	AUC/ MPC
<i>E. coli</i>	0,35 ¹	29.46 (>100%)	169.26	27.51 (>100%)	191.88	31.74 (>100%)	229.63	25.11 (>100%)	189.88	38.24 (>100%)	203.11
<i>K. pneumoniae</i>	0,512 ²	26.53 (>100%)	115.70	25.64 (>100%)	131.17	30.14 (>100%)	156.97	23.30 (97,08%)	129.80	34.86 (>100%)	138.84
<i>Salmonella spp</i>	0,73	23.51 (97.96%)	81.15	23.72 (98.75%)	92	28.50 (>100%)	110.10	21.45 (89.37%)	91.04	31.39 (>100%)	97.38

¹peros y gatos (Wezstein, H.G. 2005); ²ratas (Kesteman y col., 2009)

IV.3.1.1.- Enrofloxacin

Para la realización del estudio de los índices farmacocinéticos /farmacodinámicos se utilizaron los datos de Concentraciones Inhibitorias Mínimas MIC₉₀ aportados por Gandolf y col., en 2005 en camélidos y por Elmas y col., en 2001 en cabras y Bermingham y col., en 2002 en ovejas. Estos valores hacen

referencia a infecciones intestinales (*Salmonella spp* = 0,03 µg/ml y *Clostridium perfringens* = 0,25 µg/ml) y respiratorias (*Mannheimia haemolytica* = 0,3 µg/ml y *Pasteurella multocida* = 0,15 µg/ml), bacterias responsables de la mayoría de los procesos infecciosos en llamas.

En la tabla 86 se muestran los resultados obtenidos para estos índices utilizando los valores de C_{max} tras la administración de enrofloxacin vía IM y SC y C_0 tras la administración de enrofloxacin vía IV y los valores de $AUC_{0-\infty}$ de las diferentes vías.

Tabla 86.- Predictores de eficacia (C_{max}/MIC y $AUC_{0-\infty}/MIC$) estimados para enrofloxacin (5mg/kg) administrada por vía IV, IM y SC en dosis única, frente a bacterias aisladas en procesos infecciosos digestivos y respiratorios en especies ruminantes.

Bacteria	MIC ₉₀ (µg/ml)	IV		IM		SC	
		C_{max}/MIC	$AUC_{0-\infty}/MIC$	C_{max}/MIC	$AUC_{0-\infty}/MIC$	C_{max}/MIC	$AUC_{0-\infty}/MIC$
<i>Salmonella spp</i>	0.03 ¹	499	1530	126	1402	109	1331
<i>Clostridium perfringes</i>	0.25 ²	60	184	15	168	13	160
<i>M. haemolytica:</i>	0.03 ³	499	1530	126	1402	109	1331
<i>P. multocida:</i>	0.15 ³	100	306	25	280	22	266

¹cabras (Elmas y col., 2001); ²camélidos (Gandolf y col., 2005); ³ovejas (Bermingham y col., 2002)

En la tabla 87 se muestran los resultados obtenidos para estos índices utilizando los valores de C_{max} y $AUC_{0-\infty}$ tras la administración de enrofloxacin LA vía SC en dosis única y SC en dosis múltiple (primera y segunda dosis).

Tabla 87.- Predictores de eficacia (C_{max}/MIC y $AUC_{0-\infty}/MIC$) estimados para enrofloxacin LA (15 mg/kg) administrada por vía SC en dosis única y SC en dosis múltiple (primera y segunda dosis), frente a bacterias aisladas en procesos infecciosos en digestivo y respiratorio es especies ruminantes.

Bacteria	MIC ₉₀ (µg/ml)	SC LA única		SC LA 1ªdosis		SC LA 2ªdosis	
		C_{max}/MIC	$AUC_{0-\infty}/MIC$	C_{max}/MIC	$AUC_{0-\infty}/MIC$	C_{max}/MIC	$AUC_{0-\infty}/MIC$
<i>Salmonella spp</i>	0.03 ¹	164	2393	207	4135	244	5678
<i>Clostridium perfringes</i>	0.25 ²	184	287	168	496	160	678
<i>M. haemolytica:</i>	0.03 ³	164	2393	207	4135	244	5678
<i>P. multocida:</i>	0.15 ³	32	479	41	827	49	1136

¹cabras (Elmas y col., 2001); ²camélidos (Gandolf y col., 2005); ³ovejas (Bermingham y col., 2002)

Para el cálculo de los índices AUC/MPC y tiempo en que las concentraciones están por encima de la MPC ($T_{>MPC}$), como porcentaje de tiempo en 12 horas (intervalo de dosis), se han empleado los valores de MPC de enrofloxacin publicados por Pasquali y Manfreda en 2007 para *Salmonella spp* = 1 µg/ml obtenido en aves (pollos) y por Wetzstein, H.G., en 2005 para *Escherichia coli* = 0,35-0,5 µg/ml obtenido en especies no ruminantes (perros y gatos) y

estimados para tratamientos con 5 mg/kg de enrofloxacin por las diferentes vías de administración: IV, IM, SC dosis única y SC dosis múltiple (novena dosis) y los estimados para tratamientos con 15 mg/kg de enrofloxacin LA por vía SC en dosis única y dosis múltiple (cada 72 horas)

En la tabla 88 se muestran los resultados obtenidos para estos índices utilizando los valores de $AUC_{0-\infty}$ tras la administración de enrofloxacin vía IV, IM y SC en dosis única y SC en dosis múltiple tras la novena administración.

Tabla 88. Estimación de los índices de prevención de mutaciones AUC/MPC y $T_{>MPC}$ para enrofloxacin (5 mg/kg) administrada por vía IV, IM y SC en dosis única y SC dosis múltiple (novena dosis), frente a bacterias aisladas en procesos infecciosos digestivos y respiratorios de especies no rumiantes.

Bacteria	MPC ($\mu\text{g/ml}$)	IV		IM		SCdu		SC 9ª dosis (TF)	
		$T_{>MPC}$ (% _{12h})	AUC/MPC	$T_{>MPC}$ (% _{12h})	AUC/MPC	$T_{>MPC}$ (% _{12h})	AUC/MPC	$T_{>MPC}$ (% _{12h})	AUC/MPC
<i>E. coli</i>	0,35-0,5 ¹	23,31 (>100)	91,78	26,15 (>100)	84,1	21,06 (>100)	79,86	21,58 (>100)	65,28
<i>Salmonella spp</i>	1 ²	10 (83.3%)	45,89	16,72 (>100)	42,05	17,25 (>100)	39,93	13,37 (>100)	32,64

¹perros y gatos (Wezstein , H.G. 2005); ² pollos (Pasquali y Manfreda, 2007)

En la tabla 89 se muestran los resultados obtenidos para estos índices utilizando los valores de $AUC_{0-\infty}$ tras la administración de enrofloxacin LA vía SC en dosis única y en dosis múltiple (cada 72 horas).

Tabla 89. Estimación de los índices de prevención de mutaciones AUC/MPC y $T_{>MPC}$ para enrofloxacin LA (15 mg/kg) administrada por vía SC en dosis única y dosis múltiple (cada 72 horas), frente a bacterias aisladas en procesos infecciosos digestivos y respiratorios de especies no rumiantes.

Bacteria	MPC ($\mu\text{g/ml}$)	SC LA		SC LA 1ª dosis		SC LA 2ª dosis	
		$T_{>MPC}$ (% _{72h})	AUC/MPC	$T_{>MPC}$ (% _{72h})	AUC/MPC	$T_{>MPC}$ (% _{72h})	AUC/MPC
<i>E. coli</i>	0.35-0.5 ¹	28.10 (39.02%)	143.60	46.59 (63,32%)	248.10	51.32 (71,28%)	340.70
<i>Salmonella spp</i>	1 ²	21.87 (30.37%)	71.80	37.12 (51,55%)	124.05	42.65 (59,26%)	170.35

¹perros y gatos (Wezstein , H.G. 2005); ² pollos (Pasquali y Manfreda, 2007)

V. Discusión

V.1.- Discusión del material

V.1.1.- Material biológico

A la hora de diseñar nuestro estudio se siguieron las recomendaciones que figuran en la *Guidelines for the conduct of pharmacokinetic studies in target animal species* (EMA/CVMP/133/99-FINAL) y “*Guidelines for the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products*” (EMA/CVMP/016/00-corr-FINAL), donde se indican las condiciones que se deben seguir para llevar a cabo estudios comparativos de diferentes medicamentos veterinarios que contengan el mismo principio activo o donde se utilicen diferentes rutas de administración, de forma que nuestros resultados pudieran ser válidos y ser comparados con otros. Con las pruebas de bioequivalencia se pretende demostrar, que si dos medicamentos alcanzan concentraciones similares a nivel plasmático, producirán los mismos efectos sistémicos con respecto a su eficacia o inocuidad. Estas pruebas basadas en la determinación de concentraciones en sangre de sustancias activas en función del tiempo, requieren que las condiciones experimentales sean idénticas y apropiadas.

Para nuestro estudio, y siguiendo las normas anteriormente citadas, se emplearon llamas sanas de raza Chaku adultas de entre 1,5 y 6 años de edad, con un peso de $146,8 \pm 25,38$ kg (media \pm DE) de ambos sexos, nacidas, criadas y alimentadas de la misma forma, de manera que se pudiera crear con ellas un grupo homogéneo, reduciendo al máximo la variabilidad interindividual.

El sexo no fue discriminatorio puesto que no existen indicios en la bibliografía de diferencias farmacocinéticas por este factor. No obstante y debido al mayor número de hembras frente a machos en las explotaciones habituales, se mantuvo esta proporción. También tuvimos en cuenta la edad trabajando con animales considerados adultos en todos los aspectos, de forma que los sistemas de eliminación (metabolismo y excreción) (renal y hepático), fundamentales para los estudios farmacocinéticos, fueran maduros.

A pesar de que no existen diferencias más que en longitud y grosor del pelo y la fortaleza corporal con la raza K'ara (Fernández-Baca, S., 2005), todos los animales en estudio pertenecían a la raza Chaku.

Puesto que las patologías pueden alterar los estudios farmacocinéticos se puso especial cuidado en el estado de salud de los animales. Todos ellos pasaron control sanitario, excluyendo aquellos cuyo estado no era el adecuado.

Consideramos de esta forma que la utilización de los 18 animales suponía un grupo suficientemente homogéneo y en número adecuado para realizar los estudios farmacocinéticos, ya que es similar a los utilizados en otros estudios y por otros autores, tanto en llamas (Kreil y col., 2001; Christensen y col., 1996) y alpacas (Gandolf y col., 2005), como en camellos (Harron y col., 1997; Aliabadi y col.,

2003; Abo-El-Sooud y col., 2009) y otros rumiantes (Sidhu y col., 2010; Goudah y col., 2008; Dova y col., 2007; Cárceles y col., 2009).

Para el diseño experimental de los estudios de marbofloxacina y enrofloxacina por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea en dosis única, se utilizó en cada caso, un diseño cruzado de 2x3, con un periodo de lavado no inferior a 15 días; de esta forma seguíamos la recomendación de incluir un periodo de lavado de al menos 10 veces la semivida terminal de la sustancia activa o sus metabolitos, o incluso superior para que pudiera desaparecer algún efecto farmacológico como la inducción enzimática microsomal, etc., si bien es prácticamente imposible que en dosis únicas se produjeran estos efectos.

Para el estudio de ambas moléculas de dosis múltiples vía subcutánea y enrofloxacina LA dosis única y dosis múltiple se realizó un diseño paralelo, con un periodo de lavado, superior en este caso, de 30 días.

La distribución de los animales en la secuencia del tratamiento se hizo al azar.

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

En todo momento para la utilización de las moléculas estudiadas se siguieron las instrucciones que cada laboratorio recomienda para su almacenamiento y manipulación.

Periódicamente se realizaron controles de mantenimiento, calibrado y limpieza del aparataje utilizado para la detección y procesado de las muestras según las instrucciones recomendadas y siguiendo las “Buenas Prácticas de Laboratorio” (GLP: DEPC 2004/9/EC 11 y GCP: CVMP/VICH/595/98-FINAL, 1998). Así intentamos asegurar la máxima calidad de los productos utilizados y del material empleado.

V.2.- Discusión del método

V.2.1.- Protocolo y vías de administración

La dosis elegida para la realización de nuestro estudio con marbofloxacina difiere de la recomendada por los laboratorios para la mayoría de las especies y procesos, que es de 2 mg/kg de peso corporal; esta dosis es la más utilizada en especies rumiantes, aunque en otras especies oscila entre 1 y 10 mg/kg de peso corporal (ver tablas 12, 13, 14 y 15). Debido a esta amplia variedad y al no tener datos del comportamiento farmacocinético de la marbofloxacina en estos animales decidimos utilizar una dosis de 5 mg/kg de forma que nos permitiera asegurar la

obtención de concentraciones plasmáticas durante un periodo de tiempo adecuado (debe ser de al menos 3 semividas, fundamentalmente para poder definir los procesos de eliminación y de tres veces el T_{max}) (Volume 8: Notice to applicants and Guideline, 2005); por otro lado teníamos el conocimiento de la escasa toxicidad de las fluoroquinolonas en animales adultos, de forma que esto no fue un factor limitante.

Esta misma dosis (5 mg/kg de pv) se seleccionó también para la enrofloxacin. Como con la molécula anterior, existe una amplia variedad de dosis según autores y especies, desde 1,25 hasta 15 mg/kg de pv (ver tablas 16, 17, 18 y 19). En camélidos, por ejemplo, se ha utilizado desde 1,25 mg/kg (Harron y col., 1997) y 4 mg/kg (Laraje y col., 2006) en camellos, hasta 10 mg/kg (Kreil y col., 2001) en llamas.

Para administrar esta dosis, se seleccionó la preparación comercial con una potencia del 10 %, tanto en el caso de la marbofloxacin como de la enrofloxacin, frente a otras preparaciones más bajas (Marbocyl® 2%, Marbocyl® FD 1%, Baytril® sol. iny. 2,5% y 5%) con objeto de evitar administrar a los animales un gran volumen del fármaco que pudiera requerir, en determinados casos, la administración en más de un punto de aplicación, evitando de esta forma los posibles procesos de irritación que también podrían modificar los procesos de absorción. Por otro lado, en estudios previos (de Lucas y col., 2008b) se había demostrado la bioequivalencia de las formulaciones de enrofloxacin al 5% y 10%.

En las administraciones múltiples, la marbofloxacin se aplicó cada 24 horas, mientras que en el caso de la enrofloxacin se aplicó cada 12 horas, dado el menor tiempo de permanencia de ésta frente a la primera, como han descrito numerosos autores en diversas especies (Waxman y col., 2001; Goudah y col., 2007; Laraje y col., 2006; en cabras, búfalos y camellos respectivamente) (ver tablas 15 y 19). Sólo en el caso de la formulación retardada de enrofloxacin, se elevó la dosis a 15 mg/kg, con el fin de asemejar a la dosis total equivalente a 3 inyecciones (5 mg/kg x 3).

En cuanto a las vías de administración, se utilizaron las consideradas más adecuadas para rumiantes por numerosos autores. Al trabajar con animales adultos, se descartó el empleo de la vía oral, con objeto de evitar las interferencias del fármaco con la microbiota rumino-reticular y viceversa, que entre otros factores implica una muy baja biodisponibilidad, demostrado en el caso de la enrofloxacin por autores como Gandolf y col., (2006), Harron y col., (1997) o Kreil y col., (2001); por otro lado no se considera una vía de administración útil para animales en pastoreo libre. Además en las llamas, cabe la posibilidad de que por el estrés al que se ven sometidas para dicha administración, el medicamento pueda ser “escupido”, expulsando todo o parte del mismo.

La vía intramuscular es una de las vías recomendadas para la administración de estas fluoroquinolonas. En algunas especies se han descritos procesos inflamatorios tras la administración intramuscular; a pesar de que en los animales

objeto de estudio, no se observaron manifestaciones de dolor o incremento de la temperatura local, ni inflamación externa tras la administración de marbofloxacin y enrofloxacin, se determinaron, no obstante, tanto al inicio como durante y al final de la experimentación, los valores de CPK (ver tablas 29 y 30). Podemos observar como efectivamente a las 12 horas postadministración los valores de CPK en ambas moléculas presentan una gran elevación, normalizándose a las 24 horas. Lo mismo podemos decir de la vía subcutánea, vía que con mayor frecuencia se utiliza en diferentes especies animales por su comodidad y por sus excelentes resultados; tampoco con esta vía se observaron reacciones visibles tras su administración y en esta vía los valores de CPK obtenidos a las 12 horas fueron inferiores a los obtenidos tras la administración intramuscular (ver tablas 29, 30 y 31). Aun así, estos incrementos pasajeros de la CPK no tienen repercusión clínica.

El protocolo que se siguió para la administración y toma de muestras, a tenor de los resultados obtenidos, abarca todo el periodo en el que se pueden detectar concentraciones plasmáticas, hasta valores por debajo del límite de cuantificación y que han permitido definir los procesos de absorción y las constantes de eliminación, llegando al menos a obtener 3 semividas de eliminación, coincidiendo con el protocolo que siguen muchos autores para las fluoroquinolonas (de Lucas y col., 2004; Carretero y col., 2002; García-Montijano y col., 2007) e igualmente siguiendo las recomendaciones de la Buenas Prácticas Clínicas (GCP: CVMP/VICH/595/98-FINAL, 1998) y de Laboratorio (GLP: Community legislation in Directives 87/18/EEC13, 1986 y Community legislation in Directives 88/320/EEC14, 1988). El periodo de lavado entre pruebas fue superior al sugerido para este tipo de estudios, que indica que los estudios deben abarcar entre 4 y 8 semividas de eliminación del fármaco objeto de estudio (Martínez, M.N., 1994), periodo ampliado a 10 semividas en el año 2000 por la EMEA (EMEA/CVMP/016/00-corr-FINAL, 2000 y Volume 8. Notice to applicants and Guideline, 2005).

V.2.2.- Metodología analítica

La mayoría de los métodos para el análisis de quinolonas están basados en el empleo de cromatografía líquida, aunque existen otras técnicas como la absorción molecular, la espectrofluorimetría, la espectrometría de masas, la electroforesis capilar, las técnicas electroanalíticas, el método microbiológico y la cromatografía de gases.

Los métodos espectrofotométricos se basan en la gran absorción de radiación ultravioleta que presentan las quinolonas, ya que estas muestran dos bandas de absorción: una entre 300-305 nm común para todas las quinolonas y otra de 245-290 nm específica para cada quinolona.

Los métodos espectrofluorimétricos se basan en la capacidad de las quinolonas de presentar fluorescencia nativa con un espectro de emisión de 350-400 nm para las quinolonas ácidas y de 440-500 nm para las quinolonas anfóteras. Hay que tener en cuenta que a medida que aumenta el pH del medio la intensidad

de fluorescencia disminuye hasta el punto de que la quinolona no presenta fluorescencia nativa. Este método tiene mayor sensibilidad y selectividad que el anterior.

La espectrometría de masas tiene la ventaja de poder trabajar con límites de detección muy bajos, pero prácticamente, sólo se utiliza para estudios de residuos o impacto medioambiental, ya que para estudios farmacocinéticos no compensa, entre otros factores, por la relación costo-beneficio.

La utilización de métodos electroanalíticos se basa en la presencia en las quinolonas de un grupo carbonilo adyacente a un grupo carboxilo, que permite la realización de estudios electroquímicos; entre ellos podemos citar la polarografía clásica de barrido simple (SSP), la oscilopolarografía (SSOP), la polarografía pulsante diferencial (DPP), la voltamperometría de resolución adsortiva (AdSV) y voltamperometría de onda cuadrada (SWV), que son utilizadas fundamentalmente para el estudio de preparados farmacéuticos y fluidos biológicos.

En los últimos años está teniendo mucho auge la electroforesis capilar debido a su gran capacidad de separar compuestos, ya que los capilares empleados tienen un mayor número de mesetas que las columnas cromatográficas; sin embargo presenta el inconveniente de que la detección es muy poco sensible.

También se ha utilizado la cromatografía de gases, pero las quinolonas son sustancias muy polares y no volátiles que se descomponen por efecto de las altas temperaturas, por lo que para su análisis se deben obtener previamente derivados volátiles (Hassouan, M. K., 2006).

En nuestro trabajo, se utilizó la cromatografía líquida de alta eficacia con detector ultravioleta-visible (HPLC/uv) para la detección y cuantificación de las moléculas en estudio, siguiendo, para la marbofloxacin, el método propuesto por Schneider y col., en 1996 que entre otros factores varía la longitud de onda a 295 nm; y para la enrofloxacin el método de Cester y col., en 1996 y modificado por de Lucas y col., en 2004, que varía la longitud de onda a 279 nm, mejorando de esta forma la resolución de los picos y la separación frente al solvente y patrón interno; los tiempos de retención con estas técnicas son muy constantes lo que nos permite evitar, en todo momento, que pueda aparecer un solapamiento de las áreas bajo la curva de los picos correspondientes a cada fármaco o sus metabolitos como en el caso de la enrofloxacin y su metabolito ciprofloxacina.

Debido a que tanto la marbofloxacin como la enrofloxacin son dos fluoroquinolonas que presentan una elevada absorbancia ultravioleta y buenas condiciones cromatográficas, son numerosos los autores que han empleado esta técnica para cuantificar las concentraciones plasmáticas en diferentes especies (Abo-El-Sooud y col., 2009; Anadón y col., 2001; Bermingham y col., 2002; Bidgood y Papich., 2005; Bousquet-Melou y col., 2002; Bregante y col., 1999;

Cárceles y col., 2009; Carpenter y col., 2009; Carretero y col., 2002; Davis y col., 2007; de Lucas y col., 2008; Dimitrova y col., 2007; etc.).

El porcentaje de recuperación obtenido en nuestro estudio con marbofloxacina, enrofloxacina y ciprofloxacina, una vez disueltas las sustancias patrón en ácido fórmico 0,1 N y tras la extracción líquido-líquido de las muestras de plasma, es muy similar al obtenido por Bregante y col., en 1999 (enrofloxacina en cabras y vacas 78 % y 86 % y ciprofloxacina 55 %); Bermingham y col., en 2002 (en ovejas, 75 % para la enrofloxacina y 60 % para la ciprofloxacina) y Waxman y col., en 2000 (marbofloxacina en cabras 91 %). Tampoco hemos encontrado diferencias con los datos obtenidos por Idowu y Peggins (2004) con cromatografía líquida con detector de fluorescencia, técnica que presenta la ventaja de utilizar un límite de cuantificación en plasma entre 1 y 100 ng/ml obteniendo una exactitud del 96-115 % para la enrofloxacina y de 92-109 % para la ciprofloxacina y recuperación de 93 % y 75 % respectivamente. También este autor indica una recuperación para la marbofloxacina del 90 % en vacas.

Otra técnica muy utilizada para estudios farmacocinéticos es el método microbiológico, cuyo principal inconveniente es la incapacidad para diferenciar metabolitos con actividad antimicrobiana como es el caso de la ciprofloxacina, metabolito de la enrofloxacina, ya que el halo de inhibición es único, así que no es posible detectar interferencias. No obstante, Lorenzutti, M.A., (2009) demostró que siguiendo el método microbiológico de Bennett y col., (1966) no existen diferencias significativas con respecto a la técnica de HPLC/uv en las concentraciones séricas de marbofloxacina en cabras, ni en los parámetros farmacocinéticos resultantes, a excepción de una mayor variación inter-día e intra-día.

Por otro lado el método microbiológico resulta una técnica rápida, relativamente simple y económica y permite utilizar un menor volumen de muestra, lo cual puede resultar útil en casos donde se realizan estudios en especies de pequeño tamaño en donde en algunas ocasiones el volumen de la muestra es muy pequeño (como es el caso de algunas aves, o animales de pequeño tamaño, ya que no se debe extraer más del 10% del volumen sanguíneo total del animal (Fudge, A.M., 2000; Campbell, T.W., 1995).

El método microbiológico ha sido utilizado por diversos autores para la detección y cuantificación de fluoroquinolonas en diferentes especies de interés veterinario (Shem-Tov y col., 1998; Adams y col., 2005; Albarells y col., 2005) y con elevados porcentajes de recuperación, como describen Haritova y col., (2003) en ovejas con valores de 94,38 % para la enrofloxacina o Goudah y col., (2007) en búfalos con valores del 90 % para la marbofloxacina.

Por último en nuestro método cromatográfico y con el objetivo de controlar las posibles variaciones que pudieran producirse durante los procesos de extracción, desecación y detección, se utilizó como patrón interno ofloxacina, ya que sus características físico-químicas son muy similares a las de la

marbofloxacina y enrofloxacina. La ofloxacina también presentó una correcta absorbancia, permitiendo una adecuada separación de las moléculas a estudiar según su tiempo de retención (6,66 marbofloxacina y 8,15 ofloxacina, 9,63 enrofloxacina, 7,88 ciprofloxacina y 5,22 ofloxacina (la diferencia en el tiempo de retención de la ofloxacina se debe al diferente flujo en las técnicas empleadas) y por tanto, una fácil identificación de las moléculas.

Por tanto, podemos decir que el método analítico (linealidad, reproductibilidad y límite de cuantificación de la marbofloxacina, de la enrofloxacina y de la ciprofloxacina) utilizado en nuestro estudio cumplió sobradamente los requerimientos para este tipo de estudios (CVMP/VICH/590/98-FINAL, 1998; CVMP/VICH/591/98-FINAL, 1998 y EMEA/CHMP/ EWP/192217/ 2009).

V.2.3.- Tratamiento farmacocinético

Los datos obtenidos de concentraciones plasmáticas, se sometieron a diferentes tipos de modelos para estudios farmacocinéticos. Con objeto de comparar las diferentes vías entre sí y con otros autores, se eligió un modelo No compartimental para todas las vías (intravenosa, intramuscular y subcutánea dosis única y subcutánea dosis múltiple), que proporciona datos más robustos y con menos artificio matemático, ya que permite estimar los parámetros farmacocinéticos basándose en datos objetivos, sin necesidad de ajustarlos a un modelo determinado, de forma que no se discrimina ningún modelo farmacocinético, pudiendo predecir además con este método las concentraciones plasmáticas tras la administración de dosis múltiple (Kinabo y McKellar, 1989).

No obstante y con el fin de tener un conocimiento más preciso del comportamiento de las moléculas en esta especie, la vía intravenosa se procesó con un modelo compartimental con y sin ponderación, a fin de establecer el mejor ajuste. Se siguieron los criterios de Akaike, Swarth (que presentan valores mínimos), el índice de correlación (que presenta valores altos) y estándar de residuales que indican la relación entre lo observado y lo predicho, comprobando que el modelo que mejor se ajustaba a esta vía de administración era el modelo bicompartimental abierto con ponderación ($1/y^2$).

V.2.2.1.- Absorción

Absorción de la marbofloxacina

Desde un punto de vista descriptivo, los valores que hemos obtenido tras la administración de 5 mg /kg de peso corporal de marbofloxacina en las llamas, por las vías intramuscular y subcutánea en dosis única, son similares como se puede observar en las tablas 39 y 41. La concentración máxima oscila entre 6,94 y 7,43 $\mu\text{g/ml}$ pero no existen diferencias estadísticamente significativas (ver tabla 71). En la administración subcutánea de dosis múltiples, tampoco se encuentran fluctuaciones que indiquen variaciones en cuanto a la concentración máxima

alcanzada por la marbofloxacina (ver tablas 43, 44, 45 y 46) , ya que los valores obtenidos tras la 3ª y 5ª administración son prácticamente iguales a la 1ª y entre sí, confirmando que no existen procesos de absorción erráticos ni se producen fenómenos de acumulación, como se aprecia en la no existencia de diferencias estadísticamente significativas (ver tabla 71). Tan sólo la C_0 (concentración plasmática a tiempo cero) tras la administración intravenosa, muestra diferencias estadísticamente significativas con el resto de vías, si bien la comparación no es válida ya que es un valor extrapolado y no existen, en este caso, fenómenos de absorción; sólo es interesante de cara a conocer los valores máximos alcanzados para poder realizar estudios de eficacia mediante parámetros tipo C_{max}/MIC .

El tiempo en ser alcanzadas las concentraciones máximas es similar en ambas vías siendo algo mayor en la subcutánea (ver tablas 39 y 41).

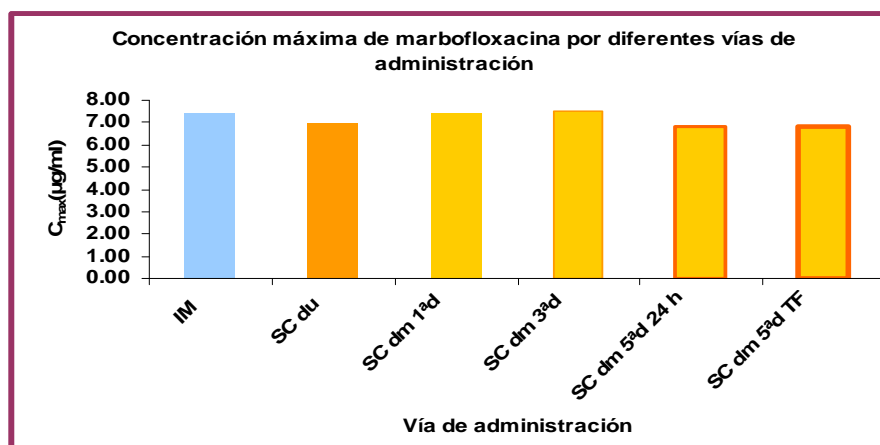
Aunque los valores de AUC, y por tanto biodisponibilidad, dependen de procesos de absorción, distribución y eliminación (metabolismo y excreción), tras la administración por diferentes vías tan sólo se verían influidos por los fenómenos de absorción ya que los procesos de distribución y eliminación, una vez alcanzado el torrente circulatorio, serían los mismos independientemente de la vía de acceso, puesto que la marbofloxacina sólo sufre metabolismo hepático y excreción renal. Por tanto las posibles diferencias en los valores de AUC y consecuentemente de biodisponibilidad, sólo serían atribuibles a fenómenos de absorción por lo que su comparación la incluimos en este apartado.

Las AUC, correspondientes a las diferentes vías de administración, no presentan diferencias estadísticamente significativas (ver tabla 70). En el caso de las administraciones múltiples las diferencias que figuran entre la 3ª y 5ª dosis a las 24 horas con la 5ª dosis a tiempo final, se deben al tiempo de cálculo de tiempo utilizado, ya que en la 3ª y 5ª dosis a las 24 horas el AUC queda truncada, mientras que el AUC de la 5ª dosis no sufre este acortamiento. Debería suceder lo mismo con la 1ª dosis, que también se contabiliza hasta las 24 horas pero el valor inicial es más alto y contrarresta estas diferencias. La biodisponibilidad, consecuentemente, tampoco presenta diferencias estadísticas.

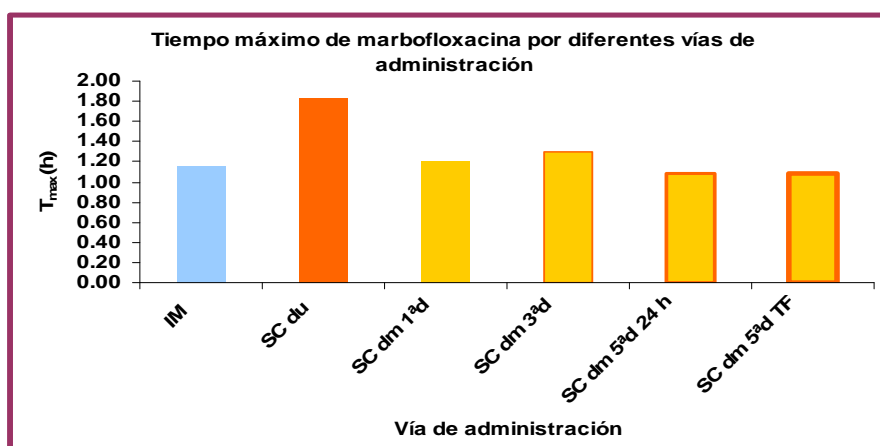
En la tabla 90 se agrupan para su más fácil comparación los valores (media y desviación estándar) de las áreas bajo la curva, concentración máxima, tiempo máximo y biodisponibilidad de las diferentes vías en estudio; en las gráficas 45 (C_{max}), 46 (T_{max}) y 47 (F) se pueden observar las similitudes y diferencias entre las mismas.

Tabla 90.- Valores (media y desviación estándar) del área bajo la curva, concentración máxima, tiempo máximo y biodisponibilidad de las diferentes vías en estudio tras la administración de marbofloxacin.

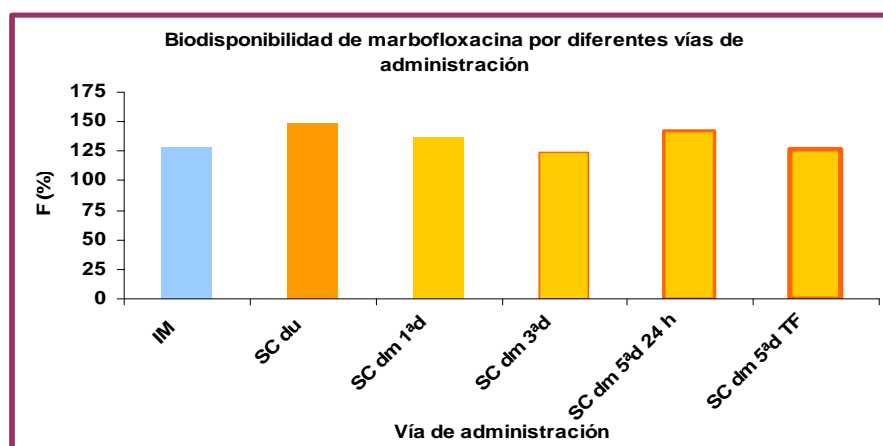
Marbofloxacin	AUC _{last} (μ-h/ml)	DE C	C _{max} (μg/ml)	DE	T _{max} (h)	DE	F(%)	DE
IV	58.64	24.19	16.13	6.05				
IM	66.43	14.23	7.43	1.28	1.17	0.41	128.14	52.96
SCdu	78.72	16.30	6.94	2.19	1.83	0.61	148.42	62.13
SCdm 1ºd	70.21	17.11	7.43	1.37	1.21	0.62	137.43	71.19
SCdm 3ºd	62.89	16.06	7.55	1.09	1.29	1.34	124.25	68.61
SCdm 5ºd 24 h	62.68	20.88	6.80	1.32	1.08	0.47	142.95	87.61
SCdm 5ºTF	70.70	22.79	6.80	1.32	1.08	0.47	126.95	79.13



Gráfica 45.- Comparación de la concentración máxima de marbofloxacin entre las distintas vías.



Gráfica 46.- Comparación del tiempo máximo de marbofloxacin entre las distintas vías.



Gráfica 47.- Comparación de la biodisponibilidad de marbofloxacin entre las distintas vías.

Cuando comparamos estos valores con los obtenidos por otros autores y especies, comprobamos que tras la administración intramuscular, la concentración máxima obtenida en nuestro estudio (7,43 µg/ml), si bien es más elevada que las obtenidas en camellos por Laraje y col., en 2006 (que con dosis de 2 y 4 mg/kg, obtienen una C_{max} de 2,50 y 4,55 µg/ml, respectivamente), al corregir por la dosis utilizadas en cada caso, los valores serían equiparables. Nuestros resultados siguen siendo superiores a las obtenidos en otras especies, (a pesar de corregir por la dosis de 2 mg/kg utilizada por dichos autores) 1,87 µg/ml en cabras (Waxman y col., 2001); 0,81 µg/ml en ovejas (Sidhu y col., 2010); 1,40-1,82 µg/ml en vacas (Ismail y col., 2007; Schneider y col., 2004; Aliabadi y Lees, 2002).

Con la dosis seleccionada (5 mg/kg), los valores obtenidos en las llamas, son muy elevados lo que permitirá alcanzar concentraciones eficaces frente a un mayor número de patógenos sensibles, si consideramos el parámetro de eficacia C_{max}/MIC e incluso reducir la ventana de selección de mutaciones (MSW: intervalo de concentraciones entre la MIC y la MPC para un determinado patógeno, en el cual las posibilidades de seleccionar cepas resistentes es más elevada, o como define Kesterman y col., en 2009 “la posibilidad de ampliar la selección de cepas mutantes resistentes a un fármaco es más pronunciada cuando el intervalo de concentraciones plasmáticas del antimicrobiano se encuentra entre las MIC de esa población bacteriana de campo y las MPC”) (ver V.2.5).

En el caso de la administración subcutánea ocurre lo mismo ya que los valores obtenidos en las llamas (6,94 µg/ml, con 5 mg/kg) son superiores a los obtenidos en cabras por Dova y col., en 2007 (1,77 µg/ml) y en vacas (1,15 µg/ml) según Marbofloxacin Reference Book de 1999, ambos con una dosis de 2 mg/kg.

El tiempo que tardan en alcanzarse estas concentraciones, tras la administración intramuscular es de 1,17 horas, tiempo similar al obtenido en camellos (1.0-0.9 horas) por Laraje y col., (2006) y cabras (0.9 horas) por

Waxman y col (2001); pero superior al descrito tanto en ovejas como búfalos de 0,57 horas (Sidhu y col. 2010 y Goudah y col, 2007, respectivamente), y vacas (0,5-1 horas: Ismail y col., 2007; Schneider y col., 2004; Aliabadi y Lees, 2002).

Tras la administración subcutánea, sucede algo parecido, siendo el T_{max} mayor en llamas que en cabras (Dova y col., en 2007) o en vacas (Thomas y col., en 1994a).

Por tanto los camélidos (llamas y camellos) si bien presentan una C_{max} superior a otras especies, tardan más tiempo en alcanzar este valor. Esto de alguna manera se confirma cuando comparamos lo que sucede con otras fluoroquinolonas en las diversas especies.

Al igual que ha sucedido con los parámetros anteriores, la biodisponibilidad por la vía intramuscular de la marbofloxacina en las llamas presenta datos similares a los que presenta la marbofloxacina en rumiantes como cabras, ovejas y vacas (100,74 % de Waxman y col., en 2001; 106 % de Sidhu y col., en 2010; 103,79 % de Ismail y col., en 2007, Schneider y col., en 2004, Aliabadi y Lees, en 2002); en cambio la biodisponibilidad para camellos (71,95 % de Laraje y col., en 2006), y búfalos (86,79 % de Goudah y col., en 2007) es sensiblemente inferior, aunque en valores elevados, ya que en general las fluoroquinolonas presentan una biodisponibilidad casi completa por esta vía en casi todas las especies estudiadas.

También la biodisponibilidad subcutánea es elevada encontrándose en las llamas valores muy similares a los obtenidos en otras especies: 97,96 % en cabras (Dova y col., 2007) y 110,94 % en vacas (Thomas y col., en 1994a).

Absorción de la enrofloxacina

Las concentraciones plasmáticas máximas de enrofloxacina son similares en la vía intramuscular (3,78 $\mu\text{g/ml}$) y subcutánea (3,26 $\mu\text{g/ml}$) tanto en dosis únicas como múltiples (cada 12 horas); entre la primera y última (9^a) dosis, no presentan diferencias estadísticamente significativas, por lo que podemos descartar procesos de absorción erráticos o fenómenos de acumulación (ver tablas 58 y 60). Las únicas diferencias se aprecian en la C_0 de la administración intravenosa, con valores elevados que son útiles a la hora de conseguir una buena relación C_{max}/MIC .

La formulación LA, sin embargo presenta mayor concentración tras la segunda administración (ver tablas 66 y 68), pero esas diferencias no son significativas.

En cuanto al tiempo que tardan en alcanzarse estas concentraciones, si bien es ligeramente superior tras la 1^a administración de dosis múltiple (3.33 horas) frente a las demás subcutáneas o la intramuscular, tampoco existen diferencias significativas (ver tablas 52, 55, 58, 60 y 79).

La formulación retardada presentan un T_{max} de más de 7 horas, doble de las formulaciones convencionales (ver tablas 66 y 68), que puede ser consecuencia de la diferencia de formulación farmacéutica y la liberación del principio activo a partir de sus excipientes.

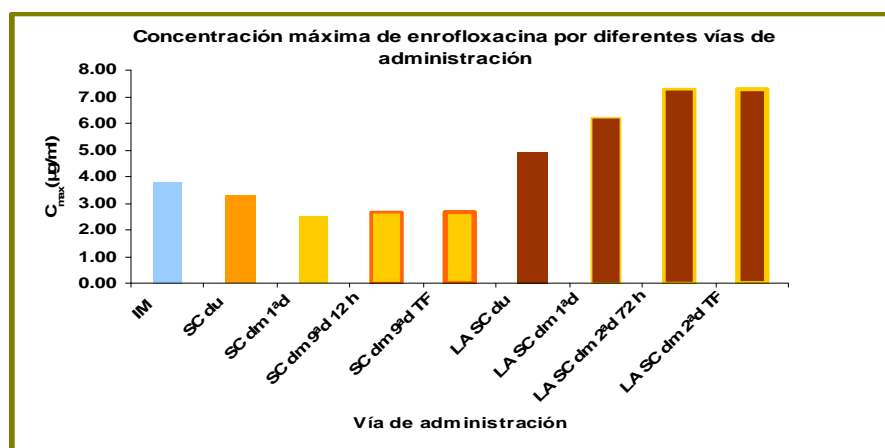
La biodisponibilidad tanto de la vía intramuscular como de la vía subcutánea es elevada (94,07 % y 88,31 % respectivamente) confirmando la biodisponibilidad de la vía subcutánea múltiple 71,65 % (ver tablas 52, 55, 58 y 60).

En la administración de enrofloxacin LA por la vía subcutánea también se obtienen elevadas biodisponibilidades en la dosis múltiple (122,20 % y 169,91 %). Tan sólo la administración de una dosis única de enrofloxacin LA presenta un valor por debajo de lo esperado (53,31 %).

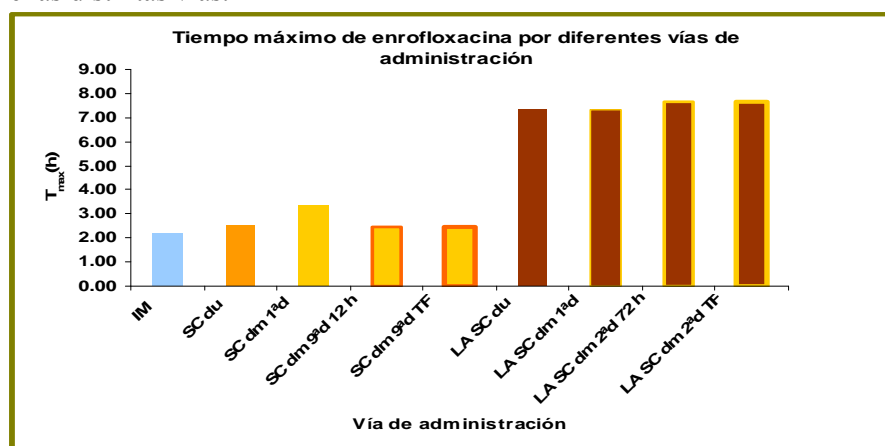
En la tabla 91 se agrupan para su más fácil comparación los valores (media y desviación estándar) de las áreas bajo la curva, concentración máxima, tiempo máximo y biodisponibilidad de las diferentes vías en estudio; en las gráficas 48 (C_{max}), 49 (T_{max}) y 50 (F) se pueden observar las similitudes y diferencias entre las mismas.

Tabla 91.- Valores (media y desviación estándar) del área bajo la curva, concentración máxima, tiempo máximo y biodisponibilidad de las diferentes vías en estudio tras la administración de enrofloxacin.

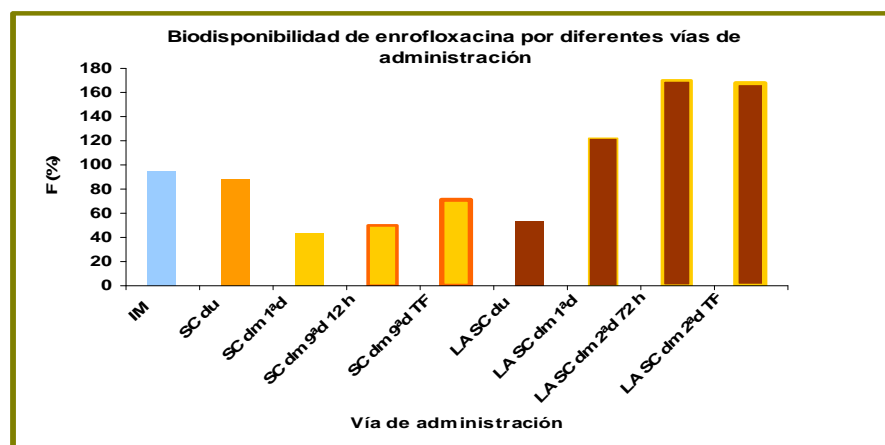
Enrofloxacin AUC	$C_{last}(\mu\text{-h/ml})$	DE C	$C_{max}(\mu\text{g/ml})$	DE	$T_{max}(\text{h})$	DE	F(%)	DE
IV	45.47	6.24	14.98	2.99				
IM	41.71	4.90	3.78	0.50	2.17	0.98	94.07	21.92
Scdu	39.71	5.00	3.26	0.46	2.50	0.55	88.31	13.00
Scdm 1 ^o d	20.22	6.43	2.51	0.84	3.33	1.63	43.68	9.98
SCdm 9 ^o d(12h)	22.68	3.50	2.68	0.49	2.46	1.81	50.19	6.57
SCdm 9 ^o d(84 h)	32.51	6.77	2.68	0.49	2.46	1.81	71.65	12.92
LA SCdu	71.56	17.06	4.92	0.62	7.33	1.03	53.31	14.96
LA SCdm 1 ^o d	122.2	26.01	6.21	1.74	7.33	3.27	122.20	26.01
LA SCdm 2 ^o d (72 h)	167.75	59.39	7.31	2.16	7.67	3.20	169.91	59.65
LA SCdm 2 ^o d (120 h)	169.91	59.64	7.31	2.16	7.67	3.20	167.75	59.39



Gráfica 48.- Comparación de la concentración máxima de enrofloxacin entre las distintas vías.



Gráfica 49.- Comparación del tiempo máximo de enrofloxacin entre las distintas vías.



Gráfica 50.- Comparación de la biodisponibilidad de enrofloxacin entre las distintas vías.

Las concentraciones alcanzadas en nuestro estudio por la vía intramuscular (3,78 µg/ml), son similares a las obtenidas por Kreil y col., (2001) también en llamas y Elmas y col., (2001) en cabras, si bien Kreil y col., (2001) utilizan el doble de dosis (10 mg/kg); y superiores a las encontradas en camellos por diferentes autores (Gavrielli y col., 1995; Harron y col., 1997; Harron y col., 1997), en ovejas y vacas (Elsheikh y col., 2002; Kaartinen y col., 1995; Haritova y col., 2003; Mengozzi y col., 1996). Tan sólo los búfalos, con la misma dosis de 5 mg/kg presentan una C_{max} más elevada, 10,2 µg/ml (Verma y col., 1999).

Sin embargo, tras la administración subcutánea, tan sólo las alpacas (4,16 µg/ml según Gandolf y col., en 2005) presentan unos valores superiores a las llamas, ya que en cabras, camellos ovejas y vacas son valores netamente inferiores (Ramesh y col., 2002; Gavrielli y col., 1995; Rahal y col., 2006; de Lucas y col., 2008b; Kaartinen y col., 1995; McKellar y col., 1999; Davis y col., 2007).

En cuanto al tiempo (T_{max}) que tardan en alcanzarse estas concentraciones por la vía intramuscular oscila entre las 1,4 horas en llamas (Kreil y col., 2001) y las 7,7 horas en camellos (Harron y col., 1997); con valores intermedios de 2,17 horas en nuestro estudio y 4,33 horas Harron y col., (1997). Tan sólo Gavrielli y col., (1995) en camellos describen un T_{max} de 1 hora.

En especies diferentes a los camélidos se obtienen tiempos más breves, de menos de una hora en ovejas y cabras (Rao y col., 2001; Haritova y col., 2003; Mengozzi y col., 1996) y de 2,4 horas para vacas, búfalos, ovejas y cabras (Elmas y col., 2001; Elsheikh y col., 2002; Verma y col., 1999; Kaartinen y col., 1995).

Por la vía subcutánea también el T_{max} presenta grandes variaciones, desde 1 hora que describe Gavrielli y col., (1995) en camellos, pasando por 1,21-3,2 horas en bovinos (de Lucas y col., 2008b; Kaartinen y col., 1995; McKellar y col., 1999), 2,5 horas en nuestro estudio y 2,9 horas en cabras (Ramesh y col., en 2002), hasta 6 horas en alpacas (Gandolf y col., 2005).

En cuanto a la biodisponibilidad, como es frecuente en las fluoroquinolonas, los diversos autores en diferentes especies describen valores que oscilan entre el 90% y 100%, en llamas, camellos, alpacas, ovejas, cabras, vacas y búfalos (Kreil y col., 2001; Gravielli y col., 1995; Gandolf y col., 2005;...). Tan sólo Rahal y col., en 2006, obtuvieron en ovejas un valor inferior a los anteriores (50,62 %).

Ciprofloxacina

La concentración máxima alcanzada por la ciprofloxacina, como metabolito activo tras la administración de 5 mg/kg pv de enrofloxacin, no superó en ninguna de las vías el valor de 0,08 µg/ml y el tiempo en que estas concentraciones fueron alcanzadas osciló entre las 2 horas postadministración para la vía intravenosa, 3 horas para la vía intramuscular y 6 horas para la vía subcutánea, tanto con dosis única, como con dosis múltiple, valor que coincide con el obtenido por Davis y col., en 2007 que indican que tras la administración subcutánea de 12,5 mg/kg de

enrofloxacin en vacas, la concentración máxima encontrada de ciprofloxacina no se alcanzó hasta las 6,4 horas. Tras la administración de 15 mg/kg de peso corporal de enrofloxacin LA tampoco se superó este valor de concentración máxima. Estos datos coinciden con los obtenidos por Gandolf y col., en 2005 en alpacas tras la administración de 5 mg/kg de peso corporal vía intravenosa y 10 mg/kg de peso corporal vía oral de enrofloxacin, donde los valores de concentración máxima de ciprofloxacina obtenidos fueron de 0,06 µg/ml y 0,15 µg/ml respectivamente. También Bermingham y col., en 2002 en ovejas indican que tras la administración de enrofloxacin por las mismas vías y las mismas dosis que el autor anteriormente citado, la concentración de ciprofloxacina no excedió de 0,20 µg/ml en ovejas por lo que la actividad antimicrobiana de la ciprofloxacina no es más que una contribución menor a la actividad antimicrobiana de la enrofloxacin. Sin embargo, autores como Grobbel y col., (2007), Kaartinen y col., (1995), Mengozzi, G., (1996), Küng y col., (1993) y Anadon y col., (1995a), opinan que la ciprofloxacina es un antimicrobiano más potente que la enrofloxacin frente a muchos patógenos de medicina veterinaria, e indican la necesidad de sumar las AUC de ambas fluoroquinolonas a la hora de calcular los índices PK/PD (Prescott y Yieldind, 1990).

Rahal y col., en 2006 indican que las ovejas presentan escasa capacidad de metabolización hepática de fármacos *in vivo*, de ahí que se encuentren bajas concentraciones de ciprofloxacina en estos animales. También otros autores como Rao y col., (2001 y 2002) en cabras y Varma y col., (2003) en vacas, evidencian bajas concentraciones de ciprofloxacina tras la administración de enrofloxacin.

Si comparamos las AUC de nuestro estudio, observamos como la ciprofloxacina no supera en ningún caso el $1,13 \pm 0,01$ % de la enrofloxacin, lo que pone de manifiesto la escasa importancia de este metabolito activo desde el punto de vista de eficacia antimicrobiana, como acabamos de comentar que indican Gandolf y col., en 2005. Por otro lado comprobamos que la capacidad metabólica de las llamas, frente a la enrofloxacin, es semejante a la demostrada por otros rumiantes, con porcentajes de transformación inferiores al $3,10 \pm 0,47$ % (Bermingham y col., 2002) y netamente inferior al descrito por otros autores que alcanzan tasas hasta del 50 % como Mengozzi, G., en 1996 en ovejas (35-55 %), Malbe y col., en 1996 y de Lucas y col., en 2008(b) en vacas (29 % y 45 % respectivamente) y Richez y col., en 1994 en terneros (25 %).

Por tanto, en el caso de las llamas, se pone de manifiesto la escasa trascendencia de la ciprofloxacina como metabolito activo sobre los índices de eficacia basados en los valores de AUC y nula en los índices basados en C_{max} , puesto que como se ha descrito previamente, hay un desfase de, al menos, 2 horas.

Comparación de la absorción de marbofloxacina y enrofloxacin con otras fluoroquinolonas

Si comparamos con otras fluoroquinolonas, observamos que la marbofloxacina y la enrofloxacin administradas por la vía intramuscular se

mantienen en valores de C_{max} iguales o superiores, independientemente de la especie estudiada y con una dosis de 5 mg/kg: tras la administración de ciprofloxacina la concentración plasmática obtenida fue de 1,92 $\mu\text{g/ml}$ en cabras (el-Banna y el-Sooud, 1998); de difloxacina 4,1 $\mu\text{g/ml}$ en cabras (Atef y col., 2002), 1,89 $\mu\text{g/ml}$ en ovejas (Marín y col., 2007) y 2,84 $\mu\text{g/ml}$ en dromedarios (Abo-El-Sooud y col., 2009); tras la administración de moxifloxacina en ovejas se obtuvo un valor de 1,66 $\mu\text{g/ml}$ (Cárceles y col., 2009) y de 2,16 $\mu\text{g/ml}$ en camellos (Abd-el-Aty y col., 2007). Por último, la norfloxacina dio un valor de 3,29 $\mu\text{g/ml}$ en ovejas con una dosis de 10 mg/kg (González y col., 2001) y la danofloxacina, 0,49 $\mu\text{g/ml}$ en camellos con una dosis de 1,25 mg/kg (Aliabadi y col., 2003).

Mientras que con ciprofloxacina la C_{max} tarda en alcanzarse tan sólo 0,53 horas en ovejas (Muñoz y col., 1996), con danofloxacina, difloxacina, moxifloxacina y norfloxacina, en camellos, dromedarios y ovejas, se requiere un tiempo similar al de nuestro estudio para conseguir dichos niveles (el-Banna y Abo el-Sooud., 1998; Aliabadi y col., 2003; Atef y col., 2002; González y col., 2001; Marín y col., 2007; Cárceles y col., 2009; Abd-el-Aty y col., 2007; Abo-El- Sooud y col., 2009).

En el caso de la administración subcutánea de marbofloxacina y enrofloxacina, los valores de C_{max} también son superiores a los obtenidos por diferentes autores con otras quinolonas: McKellar y col., (1999) en vacas con danofloxacina (0,2 $\mu\text{g/ml}$), Marín y col., (2007) en ovejas con difloxacina (1,39 $\mu\text{g/ml}$) y Cárceles y col., (2009), en ovejas con moxifloxacina (0,90 $\mu\text{g/ml}$).

El tiempo que tarda en alcanzarse dicha concentración por esta vía en el caso de la marbofloxacina es semejante al obtenido con danofloxacina en vacas (1,25 horas según McKellar y col., 1999); mientras que el mismo dato en la enrofloxacina se asemeja más al obtenido en ovejas, con difloxacina y moxifloxacina, donde se obtienen valores superiores (5,33 horas y 3,25 horas respectivamente según Cárceles y col., en 2009 y Marín y col., en 2007).

En general, los camélidos tanto llamas, alpacas como camellos, para marbofloxacina y enrofloxacina presentan C_{max} superiores al resto de especies pero tardan más tiempo en alcanzarlo; tan sólo los búfalos en el caso de la enrofloxacina presenta valores de C_{max} más altos. En todas estas especies la característica común es su adaptación a condiciones extremas de temperatura. No disponemos de datos en cuanto a las posibles variaciones en la irrigación o diferencias anatómicas o fisiológicas de tejido subcutáneo en estas especies, pero sería lo único que podría justificar este comportamiento distinto, ya que sucede algo parecido con las demás fluoroquinolonas estudiadas y tampoco sus características físico-químicas, justifican este hecho.

V.2.3.2.- Distribución

El volumen de distribución se identifica habitualmente como el grado de extensión de la distribución de los fármacos, si bien se puede decir que el V_d no

fue diseñado fundamentalmente para evaluar esa distribución de los fármacos en los diferentes espacios fisiológicos, entre otros motivos porque se debe tener en cuenta una serie de factores, como la unión a proteínas en plasma o tejidos.

De forma más correcta se puede definir el Vd como una proporción constante entre la cantidad total de fármaco en el organismo y la concentración plasmática, que puede ser medida en diferentes condiciones (bajo equilibrio V_{ss} , pseudoequilibrio V_z). Por tanto la principal aplicación clínica del Vd es calcular la dosis de carga (ej.: la primera dosis de una régimen de dosis múltiple) con el objetivo de alcanzar rápidamente la concentración en las dianas terapéuticas.

En nuestro estudio hemos utilizado sólo la vía intravenosa para calcular los volúmenes ya que cuando se calcula el V_z por vías extravasculares se deben tener en cuenta dos premisas: la primera, que la dosis que accede al sistema circulatorio debe ser exactamente conocida y por tanto se debe corregir por la biodisponibilidad, y la segunda, que se debe utilizar sólo la fase de eliminación pura, es decir, sin fenómenos de *flip-flop*, con el fin de cumplir la condición de distribución en pseudoequilibrio, condiciones en la cual se ha definido el V_z , y ese proceso no siempre se conoce por esas vías (Toutain y Bousquet-Mélou, 2004a).

Distribución de marbofloxacin

En nuestro trabajo, el V_z y el V_{ss} (1,26 L/kg y 0,72 L/kg) alcanzan valores similares a los obtenidos por otros autores en diferentes especies: 1,31-0,74 L/kg en cabras (Waxman y col., 2001); 1,5-1,96 L/kg en ovejas (Sidhu y col., 2010; Cox y col., 2007); 1,09-1,20 L/kg en vacas (Ismail y col., 2007; Cox y col., 2007; Aliabadi y Lees, 2002); 1,77 L/kg en búfalos (Goudah y col., 2007). Las ligeras variaciones pueden ser debidas a pequeñas diferencias en los porcentajes de unión a las proteínas en plasma, tejidos o bien a pequeñas modificaciones en el aclaramiento plasmático, e incluso en los espacios fisiológicos a los que accede, aunque en la práctica son esencialmente los mismos. En cualquier caso la marbofloxacin presenta una alta capacidad de distribución, que le permite alcanzar concentraciones eficaces en los diferentes tejidos orgánicos.

El V_z es un volumen dependiente del aclaramiento plasmático, y su valor numérico puede ser modificado por una alteración del Cl, mientras que el espacio fisiológico donde se distribuye el fármaco, permanece sin cambios.

Distribución de enrofloxacin

Los volúmenes de distribución de enrofloxacin en llamas tras la administración intravenosa de 5 mg/kg (0,6 L/kg) son parecidos a los descritos por Gandolf y col., (2005) en alpacas y por Varma y col., (2003) en vacas (0,44 L/kg). En cambio para las mismas y otras especies, autores como Idowu y col., (2010) en vacas (1,59 L/kg) o Gavrielli y col., (1995) en camellos (1,13 L/kg), Mengozzi y col. (1996) en ovejas (3,02 L/kg) y Christensen y col., (1996) o Kreil y col., (2001), en llamas (3,46-4 L/kg respectivamente) obtienen valores muy superiores.

Esto puede ser debido a diferencias en los sistemas de cálculo (Christensen y col., en 1996 lo calcula en 12 horas) o a que se hayan producido fenómenos de *flip flop* que alteraran la fase de eliminación en pseudoequilibrio, o a diferencias en la capacidad de aclaramiento, como hemos comentado previamente.

Para la mayoría de los fármacos el V_z es mayor que el V_{ss} , pero generalmente las diferencias son pequeñas. No obstante estas diferencias pueden ser grandes si una gran fracción del fármaco es eliminada antes de alcanzar el pseudoequilibrio, ya que en este estado, las concentraciones plasmáticas decrecen porque el fármaco es continuamente extraído desde el plasma en relación proporcional al aclaramiento plasmático; en cambio, en condiciones de equilibrio, la concentración plasmática es constante porque la relación de fármaco eliminado es compensado por la relación de fármaco que ingresa en el organismo (el aclaramiento es aparentemente nulo). Por eso, a igualdad de fármaco en el organismo, las concentraciones plasmáticas pueden ser sistemáticamente más bajas en pseudoequilibrio que en condiciones de equilibrio y por tanto V_z será mayor que V_{ss} (el V_{ss} puede ser considerado como el límite del V_z cuando el aclaramiento tiende a cero). El impacto del aclaramiento sobre el V_z explica por qué el V_z disminuye cuando existe insuficiencia renal. Sería erróneo explicar la disminución como una alteración en el volumen en que se distribuye (Toutain y Bousquet-Melou, 2004a).

Comparación de la distribución de marbofloxacin y enrofloxacin con otras fluoroquinolonas

Si comparamos la distribución de la marbofloxacin y de la enrofloxacin entre camélidos con otras moléculas se observan, en algunos casos, notables diferencias. Así en camellos, la danofloxacin presenta un valor de V_z de 2,53 L/kg (Aliabadi y col., 2003), el doble del presentado por la marbofloxacin. Esto podría deberse a la retención que sufre en los tejidos, según Mann y Frame en 1992 y Giles y col., en 1991, que describen concentraciones de danofloxacin en tejido pulmonar entre 4 y 7 veces las concentraciones plasmáticas y que persistían hasta 12 horas después de la administración intramuscular en cerdos y vacas. También presenta una baja unión a las proteínas plasmáticas (Greko y col., 2003; Aliabadi y col., 2003; Sarasola y col., 2002; Bregante y col., 2000; Cox, S.K., 2007; Atef y col., 2001), pasando más rápidamente a los tejidos al ser mayor la fracción libre de esta fluoroquinolona. Por el contrario moxifloxacin y difloxacin, que químicamente son similares a la marbofloxacin presenta valores parecidos entre sí. Abd-el-Aty y col., (2007) con moxifloxacin obtuvieron un valor de 1,78 L/kg y Abo-El-Sooud y col., 2009 en dromedarios tras la administración de difloxacin encontraron valores de 1,02 L/kg. La moxifloxacin se caracteriza por tener una muy alta unión a proteínas (93%) en camellos y en el resto de especies, superior al 60%. Estas diferencias podrían justificar las diferencias frente a marbofloxacin y enrofloxacin.

Los valores descritos en otras especies ruminantes para diferentes quinolonas se encuentran en cifras que indican una alta capacidad de distribución.

Ciprofloxacina 1,9-3,4 L/kg; danofloxacina 1,4-3,9 L/kg; difloxacina 1,1-1,68 L/kg y moxifloxacina 1,05-2,03 L/kg (el-Banna y Abo el-Sooud, 1998; García-Ovando y col., 2000; Cox y col., 2004; Cox y col., 2007; Sappal y col., 2009; Shem-Tov y col., 1998; Atef y col., 2002; Marin y col., 2007; Cárceles y col., 2009; González y col., 1997-2001).

V.2.3.3.- Eliminación

La eliminación considera los procesos de metabolismo y excreción. El aclaramiento plasmático es el más importante de los parámetros farmacocinéticos, porque mide la capacidad total del organismo para eliminar el fármaco. Se podría definir como la relación entre dos términos, una relación de eliminación de fármaco y la correspondiente concentración. Además del aclaramiento, otros parámetros que nos pueden dar una idea de la capacidad del organismo para deshacerse de un fármaco son la semivida de eliminación, definida como el tiempo que tarda en reducirse a la mitad la concentración plasmática después de alcanzar el pseudoequilibrio de distribución, es decir se mide cuando la concentración plasmática se debe solamente a procesos de eliminación (se deben evitar los efectos de *flip flop*), y el MRT, que expresa la persistencia total del fármaco en el organismo.

Fármacos que tengan prácticamente el mismo aclaramiento pueden tener muy diferentes semividas de eliminación. El aclaramiento plasmático expresa sólo la capacidad del organismo para eliminar el fármaco. En cambio la semivida terminal expresa la relación total del proceso de eliminación actual del fármaco durante la fase terminal. Esta relación total de eliminación depende no sólo del aclaramiento, sino también de la extensión de la distribución del fármaco, como se aprecia en la fórmula $t_{1/2} = 0.632 \cdot Vd/Cl$.

Una semivida terminal larga se puede deber a un alto Vd o/y un bajo Cl.

La semivida terminal es el más híbrido de los parámetros farmacocinéticos, porque depende de muchos otros factores y a la vez es el parámetro más sensible a la resolución de las técnicas analíticas, especialmente el límite de cuantificación.

Eliminación de marbofloxacina

El aclaramiento plasmático en las llamas presenta un valor de 0,09 L/kg·h tras la administración intravenosa. Este valor es inferior a los obtenidos por Goudah y col., en 2007 en búfalos e Ismail y col., en 2007 en vacas (0,18 L/kg·h), o los descritos en vacas, cabras y ovejas con valores que oscilan entre 0,23 L/kg·h y 0,55 L/kg·h (Cox y col., 2007; Aliabadi y Lees, en 2002; Waxman y col., 2007; Shidu y col., 2010).

El aclaramiento desde un punto de vista fisiológico dependería del flujo cardiaco (como suma de los flujos de cada uno de los órganos implicados en la eliminación, fundamentalmente hígado y riñón) y de la capacidad de extracción de

esos órganos. De forma que $Cl = Q \cdot E$, siendo Q el flujo de sangre que llega a los órganos de eliminación o más general, flujo cardiaco y E una relación de extracción $(C_{in} - C_{out})/C_{in}$ que implica las concentraciones de entrada y salida de dicho órgano.

El flujo cardiaco depende en gran medida del peso corporal, pero corregido en escala alométrica: $Q = 180 \cdot P^{0.19}$, siendo P el peso corporal en kg. En el caso de las llamas, $Q = 70,2 \text{ mL/kg/min}$.

Por tanto para un Cl de $0,09 \text{ L/kg}\cdot\text{h}$ ($1,49 \text{ mL/kg}\cdot\text{min}$), la capacidad de extracción E sería de 0,021, es decir de un 2,1%, considerándose un valor bajo (alto = 0,35; medio = 0,15; bajo = 0,05, según Toutain y Bousquet Melou en 2004b), pero si hacemos los cálculos para el resto de especies mencionadas anteriormente, comprobamos que se encuentra en mismo orden ya que no llegarían al 5% de capacidad de extracción. Esta baja capacidad de extracción se considera una condición deseable en el desarrollo de fármacos con bajas dosis o regímenes posológicos prolongados, como es el caso de la marbofloxacin.

La semivida de eliminación de la marbofloxacin es superior tras la administración intravenosa (9,16 horas) que frente a las otras vías (intramuscular: 8,47 horas; subcutánea: 6,26 horas) con diferencias estadísticamente significativas entre la intravenosa con la subcutánea y ésta con la intramuscular. La diferencia entre vías extravasculares no se puede deber a la diferencia en los procesos de eliminación puesto que son los mismos, una vez alcanzado el torrente circulatorio, sino más bien al otro factor que la determina como es el volumen de distribución, que a su vez depende de la biodisponibilidad y del establecimiento de la fase de pseudoequilibrio. En el caso de la intramuscular la elevación en los valores de CPK podría implicar un proceso irritativo que condicionaría un primer proceso de absorción rápida, consecuencia de la irritación y mayor afluencia de sangre, pudiéndose producir posteriormente un fenómeno de absorción más tardío que a su vez modificaría el tiempo en que se consigue el estado de pseudoequilibrio. El T_{max} más corto de la intramuscular frente a la subcutánea, avalaría este proceso (Toutain y Bousquet Melou, 2004c).

En el caso de la intravenosa al no depender de estos procesos, es un valor más estable, ya que se calcula en función de la pendiente de eliminación ($t_{1/2} = 0.693/\lambda$) y no está sujeto a estas fluctuaciones de absorción, puesto que en la intravenosa no existe absorción.

La no existencia de acumulación pone de manifiesto que el intervalo de dosis en la múltiple es adecuado ya que la principal aplicación clínica de la semivida terminal es seleccionar la apropiada duración del intervalo de dosis, en administración de dosis múltiples. Por tanto la semivida terminal permite predecir la acumulación del fármaco y el tiempo para alcanzar el estado estacionario.

En el caso de las administraciones múltiples, sólo presentan diferencias con la intravenosa y la intramuscular pero no con la subcutánea dosis única, ni entre sí

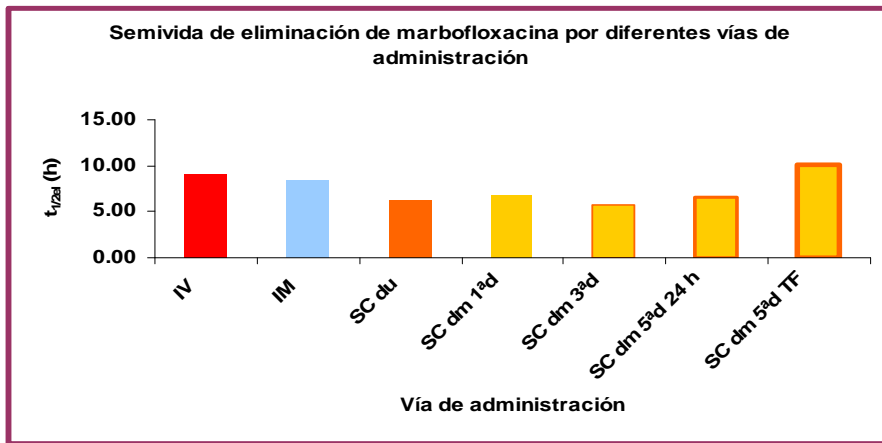
(a excepción de la 3ª y 5ª dosis 24 horas y 5ª dosis a tiempo final con todas) lo que confirma la ausencia de procesos anormales tras la aplicación de dosis múltiples, como podría ser la saturación en los procesos de excreción o metabolismo. En el caso de la 5ª dosis a tiempo final, el cambio viene motivado por los tiempos elegidos para el cálculo de la pendiente de eliminación. La estimación exacta de la pendiente requiere muestrear al menos 3 veces la semivida esperada. Se debe considerar que en las múltiples se corta a las 24 horas y por tanto podría no definirse perfectamente. Al utilizar el tiempo completo en la subcutánea 5ª dosis permite definir mejor y por eso puede tener diferencias con el resto. Esto no es tan llamativo con el MRT, debido a cómo se calcula, ya que no depende de la pendiente ($MRT = AUMC/AUC$ y el $AUMC = \int tCdt$).

Como sucede con la semivida de eliminación, a pesar de que el MRT es ligeramente mayor tras la administración subcutánea que tras la intramuscular, no hay diferencias significativas. En el caso de las administraciones múltiples tan sólo hay diferencias entre la 1ª y 3ª y la 5ª dosis a tiempo final. Dado que los parámetros no indican fenómenos de acumulación o de comportamientos anormales, estas diferencias si bien son significativas, no tienen trascendencia clínica.

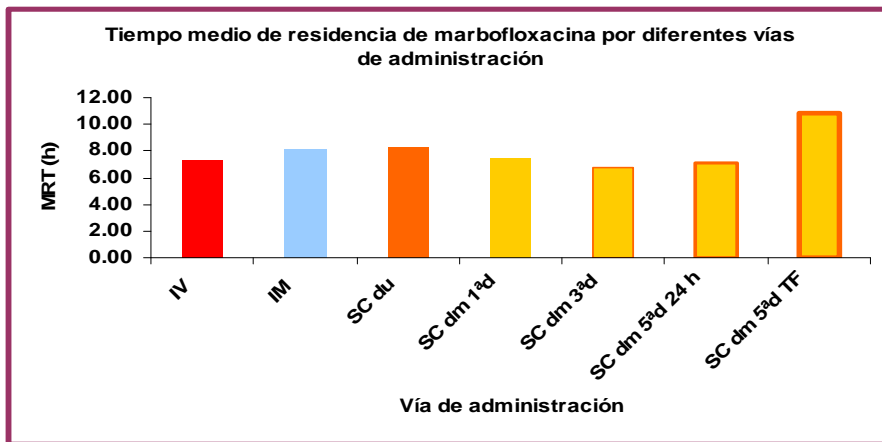
En la tabla 92 se detallan los valores (media y desviación estándar) de la semivida de eliminación, y tiempo medio de residencia de las diferentes vías en estudio; en las gráficas 51 ($t_{1/2\lambda}$) y 52 (MRT) se pueden observar las similitudes y diferencias entre las mismas.

Tabla 92.- Valores (media y desviación estándar) de la semivida de eliminación, aclaramiento plasmático y tiempo medio de residencia de las diferentes vías en estudio.

Marbofloxacina	$t_{1/2\lambda}$ (h)	DE	MRT_{last} (h)	DE	MRT_{INF} (h)	DE
IV	9.16	1.08	7.30	1.07	7.85	1.15
IM	8.47	0.31	8.21	1.57	8.76	1.69
Scdu	6.26	0.87	8.27	0.96	9.02	1.38
SCdm 1ªd	6.70	0.72	7.43	0.51	9.61	0.80
SCdm 3ªd	5.80	0.67	6.78	0.32	8.20	0.36
SCdm 5ªd 24h	6.53	1.31	7.16	0.46	9.17	0.97
SCdm 5ªd 84h	10.10	1.09	10.86	0.70	11.42	0.98



Gráfica 51.- Comparación de la semivida de eliminación de marbofloxacin entre las distintas vías.



Gráfica 52.- Comparación del tiempo medio de residencia de marbofloxacin entre las distintas vías.

Si comparamos estos valores obtenidos frente a otras especies con marbofloxacin, tras la administración intravenosa la semivida de eliminación y el tiempo medio de residencia en llamas es superior al observado por otros autores con dosis de 2 mg/kg siendo respectivamente de 7,18 horas y 5,06 horas en cabras (Waxman y col., 2001), 3,96 horas y 4,13 horas en ovejas (Sidhu y col., 2010), 5 horas y 5,5 horas en vacas (Ismail y col., 2007; Cox, S.K., 2007; Aliabadi y Lees, 2002), y semejante al descrito en búfalos 7,52 horas y 9,96 horas (Goudah y col., 2007). Como pasa con otros parámetros el comportamiento en llamas es más parecido a las cabras que a otros rumiantes.

También tras la administración intramuscular de marbofloxacin la semivida de eliminación es mayor en camélidos que en otras especies: llamas 8,47 horas; camellos 7,16 y 7,98 horas (Laraje y col., 2006); cabras 6,77 horas (Waxman y col., 2001); búfalos 6,79 horas (Goudah y col., 2007); ovejas 3,65 horas (Sidhu y

col., 2010); vacas 2,53-4,70 horas (Ismail y col., 2007; Schneider y col., 2004; Aliabadi y Lees, 2002).

Sin embargo el tiempo medio de residencia tras la administración intramuscular de marbofloxacin es muy semejante a los camellos, vacas y búfalos (8,90; 7,40; 7,95 horas Laraje y col., 2006; Ismail y col., 2007; Goudah y col., 2007) e inferior para las cabras y ovejas (4,62 horas para Waxman y col., en 2001 y 4,11 horas para Sidhu y col., en 2010).

La administración subcutánea de marbofloxacin sigue el mismo orden, siendo la semivida de eliminación en llamas de 6,26 horas y en cabras de 5,74 horas (Dova y col., 2007); el tiempo medio de residencia en las llamas es de 9,02 horas y en las cabras según los mismos autores es de 4,8 horas.

Esto indica que el tiempo de permanencia del fármaco en el organismo es mayor para esta especie, hecho que pudiera estar relacionado además de los procesos comentados anteriormente, con procesos de filtración glomerular. Los camélidos son capaces de pasar muchas horas en condiciones de privación de agua y ello pudiera afectar a la cinética de eliminación de estos animales. Ya Kreil y col., en 2001 indicaron que las llamas tienen menor capacidad de excreción para la ampicilina.

Eliminación de enrofloxacin

El aclaramiento plasmático es más bajo en esta especie (0,11 L/kg·h) y en alpacas (0,08 L/kg·h Gandolf y col., en 2005) que en cabras, (0,19 L/kg·h Gandolf y col 2006) o camellos (0,27 L/kg·h Gavrielli y col., 2005). Sin embargo en el resto de las especies y con concentraciones variables (2,5-10 mg/kg) muchos autores describen valores superiores; Rao y col., (2002) en cabras (1,33 L/kg·h), Varma y col., (2003) en vacas (1,14 L/kg·h). También Christensen y col., (1996) y Kreil y col., (2001) obtienen valores más altos en las llamas (0,7 L/kg·h).

Tal y como hemos comentado en el caso de la marbofloxacin, para explicar estas diferencias deberíamos recurrir a una interpretación fisiológica del aclaramiento plasmático, con un modelo de aclaramiento corporal. En este caso obtendríamos un valor de $E = 0,026$ o un 2,6 % de extracción. En cambio en las cabras o vacas se alcanzarían valores entre 20-35% de capacidad de extracción.

Es decir, las diferencias encontradas entre especies podrían explicarse, en parte, por la influencia del tamaño corporal y la capacidad de aclaramiento de los órganos implicados, en función del flujo sanguíneo; pero las diferencias tan llamativas de casi un orden de magnitud, en la misma especie, sólo podrían explicarse en casos de alteración grave de esos órganos, hígado y riñón, o en casos de procesos de efecto de primer paso. Por último, se podría pensar en las diferentes técnicas de muestreo y analíticas empleadas en cada trabajo.

Tras la administración intravenosa la semivida de eliminación (4.08 horas) resultó ser similar a la obtenida por otros autores en la misma especie como Christensen y col., en 1996 (3.38 horas) o Kreil y col., en 2001 (3,94 horas) a pesar de que este último utiliza una dosis doble; en otras especies, como alpacas (13,04 horas) y cabras (13,3 horas) Gandolf y col., en 2005 y 2006 obtienen una semivida del doble, igual que la obtenida en camellos jóvenes, 11,85 horas (Harron y col., 1997) y vacas, 16,3 horas (Cox y col., 2004). En el resto de las especies la semivida oscila entre 0,73 horas en cabras (Rao y col., 2002) y 4,77 horas en ovejas (Birmingham y col., 2002). A diferencia de lo que sucede en el caso de aclaramiento plasmático las modificaciones en la semivida de eliminación se pueden atribuir a procesos de distribución, o a diferencias a la hora de definir la pendiente, que a su vez se basa en los límites de cuantificación de la técnica.

Esta diferencia se pone de manifiesto en el hecho de que se pueden observar muy diferentes semividas terminales para fármacos que tienen el mismo valor de aclaramiento, y no obstante en caso de alteraciones nefrotóxicas graves, la semivida puede no alterarse y en cambio el aclaramiento disminuir a la mitad.

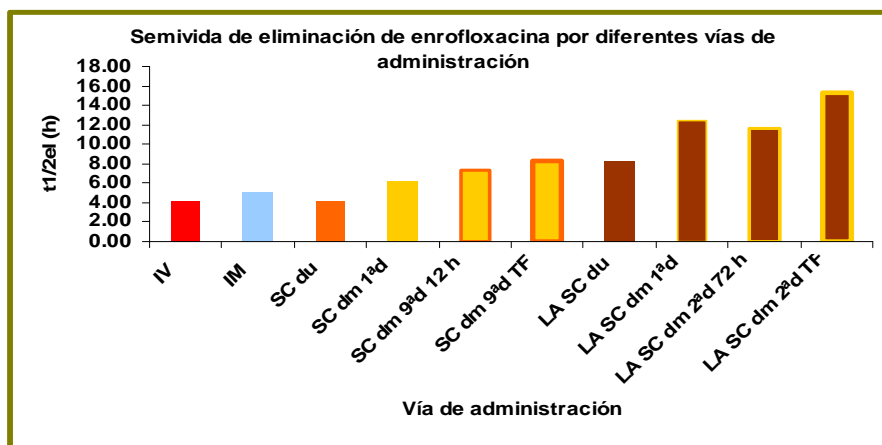
La semivida de eliminación tras la administración intramuscular en llamas es de 5,04 horas, muy similar a todas las especies a excepción de los camellos jóvenes donde se alcanzan valores de 16,69 horas. La misma pauta sigue la vía subcutánea.

El MRT tras la administración subcutánea en las llamas es de 7,40 horas, inferior al presentado en alpacas (10,33 horas) según Gandolf y col., en 2005. El resto de las especies presentan valores muy similares, esto se podría justificar por el menor CI que presentan las alpacas frente a las llamas, mientras que el MRT no está tan influido por otros factores.

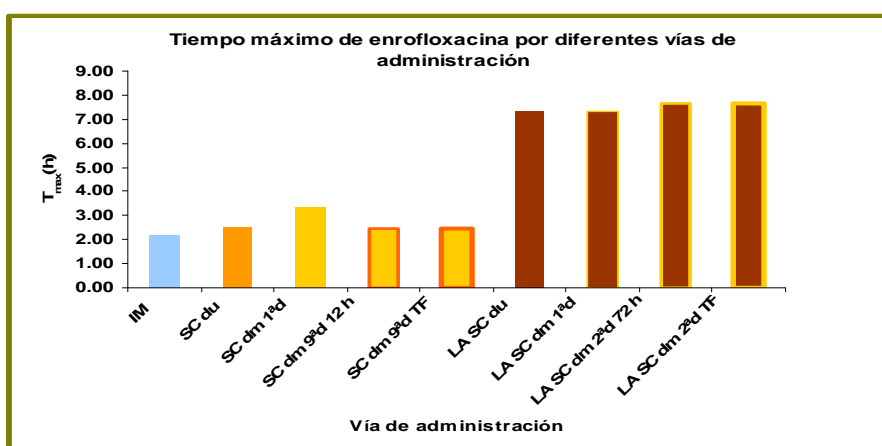
En la tabla 93 se detallan los valores (media y desviación estándar) de la semivida de eliminación, y tiempo medio de residencia de las diferentes vías en estudio; en las gráficas 53 ($t_{1/2\lambda}$) y 54 (MRT) se pueden observar las similitudes y diferencias entre las mismas.

Tabla 93.- Valores (media y desviación estándar) de la semivida de eliminación, aclaramiento plasmático y tiempo medio de residencia de las diferentes vías en estudio.

Enrofloxacina	$t_{1/2\lambda}$ (h)	DE MRT	MRT_{last}(h) DE	MRT_{INF}(h) D	E	
IV	4.08	1.04	4.64	0.70	4.87	1.00
IM	5.04	0.63	7.28	0.54	7.57	0.71
Scdu	4.09	0.59	7.40	0.56	7.56	0.60
SCdm 1^ad	6.25	1.88	5.15	0.72	9.79	3.10
SCdm 9^ad(12h)	7.39	2.14	5.63	0.94	11.31	2.82
SCdm 9^ad(84h)	8.32	1.35	10.25	1.38	10.58	1.66
LA SCdu	8.28	1.85	11.91	2.19	12.15	2.38
LA SCdm 1^ad	12.42	2.56	16.77	1.82	17.90	2.38
LA Scam 2^ad(72 h)	11.68	3.98	17.45	2.51	18.33	2.49
LA SCdm 2^ad(120 h)	15.37	7.99	18.39	2.63	18.75	2.84



Gráfica 53.- Comparación de la semivida de eliminación de enrofloxacin entre las distintas vías.



Gráfica 54.- Comparación del tiempo medio de residencia de enrofloxacin entre las distintas vías.

Comparación de la eliminación de marbofloxacin y enrofloxacin con otras fluoroquinolonas

Tras la administración intravenosa de otras fluoroquinolonas los valores referenciados de semivida de eliminación por diversos autores y en diversas especies ruminantes oscilan entre 1,2 y 4,24 horas; debemos indicar sin embargo que este parámetro, para la difloxacin, alcanza en ovejas valores de 11,43 horas (Marin y col., (2007)), tal vez porque la difloxacin es la menos polar de todas la fluoroquinolonas, siendo ampliamente reabsorbida, alargando su semivida; en cambio en dromedarios fue de 2,97 horas (Abo-El-Sooud y col., 2009). En camellos la danofloxacin, molécula que se acumula en tejidos, también es elevada, con valores de 5,37 horas (Aliabadi y col., 2003). La moxifloxacin en camellos

fue de 1,87 horas (Abd-el-Aty y col., 2007); esta fluoroquinolona presenta una elevada unión a proteínas plasmáticas y en general es la que presenta la semivida más corta en todas las especies.

Por la vía la intramuscular sucede prácticamente lo mismo que acabamos de describir; la ciprofloxacina dio un valor de semivida de eliminación de 3,06 horas en ovejas (Muñoz y col., 1996), la danofloxacina de 5,71 horas en camellos (Aliabadi y col., 2003) y la difloxacina de 13,89 horas en ovejas (Marin y col., 2007) y 3,46 horas en dromedarios (Abo-El-Sooud y col., 2009).

El tiempo medio de residencia confirma la mayor permanencia de la difloxacina en ovejas (15,83 horas según Marin y col., en 2007) que en dromedarios (5,61 horas según Abo-El-Sooud y col., en 2009), tras la administración intramuscular.

V.2.4.- Tratamiento estadístico

Marbofloxacina

Para su mejor comparación en la tabla 94 se detallan las características estadísticas de las diferentes vías y parámetros obtenidos con marbofloxacina.

Tabla 94.- Estadística de la marbofloxacina.

IV IV							
IM	C_{max}	IM					
SC du	C_{max}		SC du				
	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$					
SC dm 1ª dosis	C_{max}			SC dm 1ª dosis			
	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$					
SC dm 3ª dosis	C_{max}				SC dm 3ª dosis		
	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$					
	Cl						
				MRT_{last}		MRT_{last}	
				MRT_{inf}			
SC dm 5ª dosis (24 h)					AUC_{last}	SC dm 5ª dosis (24h)	
					AUC_{inf}		
	C_{max}						
	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$			$t_{1/2\lambda}$		
SC dm 5ª dosis (TF)					AUC_{last}	AUC_{last}	SC dm 5ª dosis (TF)
					AUC_{inf}	AUC_{inf}	
	C_{max}						
	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$	
	MRT_{last}	MRT_{last}	MRT_{last}	MRT_{last}	MRT_{last}	MRT_{last}	
	MRT_{inf}	MRT_{inf}	MRT_{inf}	MRT_{inf}	MRT_{inf}	MRT_{inf}	

La vía intravenosa presenta diferencias significativas con todas las vías: como es lógico al comparar la C_{max} con la C_o y las $t_{1/2\lambda}$, excepto con la intramuscular.

La vía intramuscular presenta diferencias únicamente en la $t_{1/2\lambda}$ con las vías subcutáneas.

Entre las administraciones subcutáneas, tan sólo se aprecian diferencias significativas entre el MRT de la 1ª y 3ª subcutánea múltiple y en el AUC y $t_{1/2\lambda}$ de la 3ª con las 5ª tanto a 24 horas como a tiempo final. Como es lógico la 5ª administración subcutánea a tiempo final, se diferencia con todas las demás como consecuencia del diferente tiempo aplicado para calcular los parámetros farmacocinéticos, modificando la pendiente de eliminación y aquellos más o menos relacionados directa o indirectamente como el MRT, el AUC y $t_{1/2\lambda}$. En este caso podemos ver la influencia en los diferentes estudios que se realizan, como la selección de los protocolos de tomas de muestras pueden influir en el resultado final de los mismos y la trascendencia de perfilar lo mejor posible la fase de eliminación.

Enrofloxacin

Para su mejor comparación en la tabla 95 se detallan las características estadísticas de las diferentes vías y parámetros obtenidos con enrofloxacin.

Tabla 95.- Estadística de la enrofloxacin.

IV	IV					
IM	C_{max}	IM				
	MRT_{last}					
	MRT_{inf}					
SC du	C_{max}		SC du			
	MRT_{last}					
	MRT_{inf}					
SC dm 1ª dosis	AUC_{last}	AUC_{last}	AUC_{last}	SC dm 1ª dosis		
	C_{max}					
	$t_{1/2\lambda}$		$t_{1/2\lambda}$			
		MRT_{last}	MRT_{last}			
	MRT_{inf}	MRT_{inf}	MRT_{inf}			
SC dm 9ª dosis (12 h)	AUC_{last}	AUC_{last}	AUC_{last}	SC DM 9ª dosis (12 h)		
	C_{max}				C_{max}^*	
	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$			$t_{1/2\lambda}^*$	
	MRT_{last}	MRT_{last}	MRT_{last}			
	MRT_{inf}	MRT_{inf}	MRT_{inf}			
SC dm 9ª dosis (TF)	AUC_{last}	AUC_{last}	AUC_{last}	AUC_{last}	SC dm 9ª dosis (TF)	
				C_{max}^*		
	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}$	$t_{1/2\lambda}^*$		$t_{1/2\lambda}^*$
	MRT_{last}	MRT_{last}	MRT_{last}	MRT_{last}		MRT_{last}
	MRT_{inf}	MRT_{inf}	MRT_{inf}			
* significativo solo para T de Student (pareadas) y no para el análisis de varianza (Duncan)						

La enrofloxacin intravenosa se comporta de forma distinta en cuanto a tiempo medio de residencia con respecto a las vías intramuscular y subcutánea dosis única. Con respecto a la subcutánea múltiple hay diferencias significativas en la distribución y en la eliminación.

La vía intramuscular se comporta exactamente igual que la subcutánea única mientras que existen claras diferencias en la subcutánea múltiple en cuanto a la eliminación del fármaco.

La administración subcutánea única de enrofloxacin presenta diferencias significativas con la subcutánea múltiple también con respecto a la eliminación. La primera y última dosis de la subcutánea múltiple sí tiene diferencias significativas en cuanto a la concentración máxima alcanzada y el tiempo en que tarda el fármaco en ser eliminado.

V.2.5.- Índices de eficacia

Es un hecho sobradamente conocido que la eficacia de un fármaco antimicrobiano depende de diferentes factores como son el fármaco, el microorganismo y el hospedador. La relación triangular entre ellos, descrita por Davis (San Andrés y Boggio, 2007) implica el éxito o el fracaso de la terapéutica antiinfecciosa. Si consideramos al hospedador como el receptor del tratamiento, quedarían dos factores sobre los que intervenir para conseguir la eficacia deseada: conocer las características principales del agente patógeno causante del proceso morboso, especialmente en lo que se refiere al fármaco al que se enfrenta, y por otro lado, seleccionar el fármaco con un régimen posológico idóneo, que es aquel que utiliza la dosis más baja, que más rápida y eficazmente inhabilita los patógenos a controlar, minimizando al mismo tiempo el riesgo de selección de resistencias y la posible toxicidad asociada al antimicrobiano (McKellar y Boggio, 2007).

Para establecer una adecuada relación entre esos dos factores, es necesario definir el comportamiento del fármaco en el paciente mediante el estudio farmacocinético que describe la forma en que el huesped “utiliza ese fármaco”, incluyendo su absorción, distribución y eliminación y cuyos parámetros más importantes son la concentración plasmática (C_{max}) y el área bajo la curva de concentraciones plasmáticas ($AUC_{0-\infty}$), y el tiempo (t) durante el cual las concentraciones plasmáticas permanecen por encima de concentraciones definidas, y conocer la respuesta del patógeno frente a ese antimicrobiano mediante el estudio farmacodinámico cuyo principal parámetro es la Concentración Inhibitoria Mínima (MIC), es decir, la concentración más baja que inhibe el crecimiento de una población bacteriana en un caldo de cultivo.

La correcta integración farmacocinética y farmacodinámica permitirá conseguir el objetivo perseguido de eficacia, no solo desde el punto de vista clínico, sino también desde el punto de vista microbiológico. Los índices que definen esta integración PK/PD dependen de las características del antibiótico, fundamentalmente de su comportamiento como concentración o como tiempo

dependiente. Puesto que las fluoroquinolonas son fármacos concentración dependiente (Walker y Dowling, 2006), los índices de eficacia mas relevantes según diferentes autores son C_{\max}/MIC y AUC/MIC . (McKellar y col., 2004, Toutain y Lees, 2004, Lathers, C.M., 2002) Por tanto, necesitamos conocer por un lado, los parámetros cinéticos específicos para cada especie debido a la conocida variabilidad que pueden sufrir dichos parámetros y por otro, los valores de Concentración Inhibitoria Mínima (MIC) de los microorganismos patógenos frente a los que se va a utilizar ese antimicrobiano, que como sucede en el caso anterior, también este parámetro sufre variaciones que se deben tener en consideración.

Para realizar una integración lo más adecuada posible, hemos seleccionado los parámetros cinéticos de marbofloxacina y enrofloxacina en las llamas y a su vez, hemos elegido aquellos microorganismos que con mayor frecuencia causan procesos infecciosos en los camélidos (llamas y alpacas), como *Mannheimia haemolytica*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia. Coli*, y *Salmonella spp.* (Martín Espada y col., 2010; Mercado y col., 2004).

En el caso de los parámetros farmacocinéticos hemos utilizado el $AUC_{0-\infty}$ siguiendo las recomendaciones de Mouton y col., en 2005, que indican, que en caso de administraciones únicas, se debe usar este parámetro, y sólo, cuando se ha alcanzado el estado estacionario en el caso de administraciones múltiples, se debe usar el AUC_{0-t} , si bien el tiempo t suele ser 24 horas.

En nuestro estudio las diferencias entre las $AUC_{0-\infty}$ y AUC_{0-t} son menores del 2% en el caso de la marbofloxacina e inferiores al 1% en el caso de la enrofloxacina, para las administraciones IV, IM y SC en administraciones única, por lo que se podría haber utilizado cualquiera de ellas con idénticos resultados.

En el caso de las administraciones múltiples las variaciones son algo mayores puesto que se utilizan tiempos distintos en el cálculo de este parámetro, ya que en el AUC_{0-t} para la última administración se utiliza el tiempo final, mientras que para el resto se utiliza el valor del intervalo de dosis, (en el caso de la enrofloxacina el intervalo es de 12 horas o 72 horas en el caso de la formulación retardada) que a veces no permite definir totalmente la fase de eliminación; además, consideramos que a la hora de unificar es más conveniente usar la misma AUC en todas.

Como hemos comentado previamente el parámetro farmacodinámico MIC, está sujeto a variabilidad según el hospedador y sobre todo a la presión antimicrobiana a la que hayan sido sometidas las bacterias, por ello es conveniente utilizar datos específicos de ese microorganismo en la especie elegida y más concretamente en la región o zona donde se realiza el estudio.

De los diferentes valores de MIC, (MIC_{50} , MIC_{90}) elegimos la MIC_{90} tal como recomiendan numerosos autores (Lees y Aliabadi, 2002, Toutain y col., 2002), ya que este parámetro hace referencia a la sensibilidad del 90% de las cepas y permite conocer la situación del microorganismo más ajustada a la realidad del

momento, aunque como consecuencia de ello, su valor se haya ido incrementando a medida que se ha introducido el uso de las fluoroquinolonas y la presión antibiótica a la que se ven sometidos los microorganismos. La MIC₅₀, en cambio es más estable con el paso de los años, sin que se vea influida por el uso de antimicrobianos, de ahí que sea elegida por algunos autores como Grobbel y col., (2007), Prescott y Yielding (1990) o Watt y Brown, (1986) para poder comparar la eficacia de diferentes quinolonas, a pesar de que la sensibilidad sólo hace referencia al 50% de las cepas.

En nuestro trabajo no se han calculado los datos de MIC para las bacterias causantes de procesos infecciosos en las llamas ya que hemos utilizado animales sanos para las pruebas farmacocinéticas y no disponemos de un número suficiente de especímenes para considerar estadísticamente significativo un aislamiento de patógenos.

Tampoco hemos encontrado en la bibliografía estudios de este tipo realizados con marbofloxacin en llamas, por lo que nos hemos visto obligados a utilizar datos procedentes de otras especies, concretamente de bovinos (Meunier y col., 2004), a fin de poder realizar los cálculos con alguna base experimental y no solo teórica. Por tanto de los distintos microorganismos que figuran en la tabla 20, se han elegido los de rumiantes que además pueden provocar procesos digestivos o respiratorios en las llamas.

Como se puede observar en la tabla 84, los valores obtenidos en la relación C_{max}/MIC son, en todos los casos, superiores a 10 y los valores de la relación AUC/MIC, superiores a 125 a excepción de *P. multocida* por la vía IV e IM, lo que implica según indican numerosos autores, que los índices de eficacia cumplen sobradamente con los requerimientos establecidos para los tratamientos con fluoroquinolonas (McKellar y col., 2004; Toutain y Lees, 2004; Toutain y col., 2002, Craig, W.A., 1998; Forrest y col., 1993; Schentag, J.J., 2000; Preston y col., 1998). Incluso para microorganismos gram-positivos algunos autores consideran suficientes índices menores de 40 (Wright y col., 2000; Ambrose y col., 2001), por lo que éstos estarían incluidos en el caso anterior, como situación mas desfavorable.

En el caso de la relación C_{max}/MIC incluida la referida a *P. multocida*, supera el valor en todas las vías si bien la IV presenta un valor doble a las otras vías parenterales; no obstante se debe tener en consideración que este índice no refleja totalmente la realidad ya que la C₀ es un parámetro extrapolado. En cambio la relación AUC/MIC es más favorable en las administraciones extravasculares, lo que permite un manejo clínico más cómodo. Otros microorganismos como *E. Coli* o *Klebsiella pneumoniae* (ver tabla 20) tendrían MIC más bajas a los seleccionados en la tabla 84, por lo que se considerarían incluidos dentro de estos índices de eficacia.

Por otro lado, el valor de estos índices se puede considerar que serían inferiores a los reales, debido a la menor presión antimicrobiana a la que se supone

podrían ser sometidas las cepas presentes en llamas, ya que la marbofloxacina no es una molécula comercializada en Argentina, en el momento de realizar este estudio y en general la presión de fluoroquinolonas en la zona no es tan elevada como en Europa de donde proceden los datos de MIC (Meunier y col., 2004) y consecuentemente los valores de MIC₉₀ serían más bajos o incluso más próximos a los de MIC₅₀. En cualquier caso, cuando hay diferentes valores para un mismo patógeno se ha elegido el más alto de los publicados, por lo que podemos considerar este escenario y estas relaciones como los peores posibles.

Por tanto, según estos índices de eficacia, la marbofloxacina a la dosis seleccionada de 5 mg/kg pv administrada por las diferentes vía en dosis única o en régimen múltiple cada 24 horas (puesto que no hay diferencias estadísticamente significativas entre la C_{max} y AUC, a excepción de la administración SC 3° dosis con SC 5° dosis a tiempo final), sería eficaz para combatir las principales patologías digestivas y respiratorias que afectan a estos animales en las diferentes etapas de su vida.

Para la enrofloxacin, como en el caso anterior, tampoco disponemos de datos propios por las mismas razones, si bien, se dispone al menos, de valores de MIC en camélidos (Gandolf y col., 2005); no obstante incorporamos los valores de otros autores en especies ruminantes como ovejas y cabras (Bermingham y col., 2002, Elmas y col., 2001 respectivamente), seleccionando aquellos valores procedentes de bacterias causantes de procesos infecciosos en las llamas, y siempre tomando el valor más elevado.

Como se puede observar en la tabla 86 para las vías IV, IM y SC en dosis única y en la tabla 87 para la formulación retardada, los valores obtenidos en la relación C_{max}/MIC, superan sobradamente el valor de 10 aunque es digno de mención que la formulación LA con el triple de dosis, apenas alcanza el doble de valor que la formulación convencional. En la relación AUC/MIC sucede algo parecido: en todos los casos superan ampliamente el valor de 125, llegando en el caso de *Salmonella spp* y *M. haemolytica* a valores 10 veces superiores en la formulación convencional, y en el caso de la retardada a valores 30 veces superiores, teniendo una relación más acorde entre la dosis utilizada (15 mg/kg) y los índices obtenidos, con referencia a la otra formulación (5mg/kg). Por tanto desde el punto de vista clínico, esta formulación LA mantiene la eficacia, y permite un intervalo de dosificación más prolongado (72 horas) que a su vez conlleva un menor manejo con los animales y por tanto una disminución del estrés asociado a este manejo.

A tenor de los resultados de estos índices de eficacia, tanto la marbofloxacin como la enrofloxacin se podrían utilizar para el tratamiento de infecciones producidas por estos microorganismos sensibles a dosis inferiores a las seleccionadas en este trabajo, como las utilizadas en otras especies, manteniendo unos parámetros de eficacia adecuados; pero no podemos olvidar que las fluoroquinolonas, han sido recientemente reclasificadas en Europa, teniendo en consideración el concepto de Concentraciones Preventivas de Mutaciones (MPC) y

por tanto los índices de eficacia que incorporan este concepto como AUC/MPC y C_{\max} /MPC, deben ser también considerados para controlar la emergencia de resistencias (Olofsson y col., 2006, Olofsson y col., 2007, Kesteman y col., 2009).

Los valores de MPC frente a las fluoroquinolonas son al menos del orden de 10 veces superiores a las MIC (Pasquali y Manfreda, 2007; Wetzstein, H.G., 2005; Olofsson y col., 2006, Olofsson y col., 2007, Kesteman y col., 2009) y en ese caso podríamos considerar que con las concentraciones alcanzadas por cualquiera de las vías, están más próximas a conseguir los niveles necesarios para satisfacer, no solo un elevado grado de eficacia clínica, sino una disminución en el riesgo de generar nuevas cepas resistentes.

En cualquier caso, si consideramos la ventana de selección de mutantes (MSW), como el intervalo de concentraciones plasmáticas del fármaco entre las MIC para la población de campo (silvestre) y las MPC, con las dosis seleccionadas en nuestro estudio, somos capaces de disminuir notablemente esta ventana y el riesgo de seleccionar cepas mutantes de primer paso, todo ello sin ocasionar efectos secundarios apreciables, ya que la elevación de enzimas como la CPK es muy breve en el tiempo y no conlleva una significación clínica. Por otro lado, en las dosis múltiples, tal y como ya hemos comentado en el apartado correspondiente no se presentan fenómenos de acumulación o saturación de los procesos de eliminación.

Por último aunque las fluoroquinolonas son antimicrobianos concentración dependiente, y poseen efecto post-antibiótico marcado (marbofloxacin 0,7-4,62 horas y enrofloxacin, 1-4 horas) según dosis y microorganismo (Marbofloxacin Reference Book, 1999; McKellar, Q.A. 1996; Spreng y col., 1995). Se debe considerar lo expuesto por Pasquali y Manfreda en 2007 que indican que las concentraciones del antimicrobiano deben superar durante el mayor tiempo posible las MPC.

En el caso de la marbofloxacin, como se aprecia en la tabla 85, el tiempo en que las concentraciones plasmáticas están por encima de las MPC es del 100 % para *E.coli* y *K pneumoniae* y superior al 90 % para *Salmonella spp.* Estos datos se deben considerar con todas las precauciones posibles ya que, como se ha comentado previamente, han sido obtenidos a partir de cepas aisladas en otras especies. Tampoco se dispone de datos suficientes para saber cuál es la relación idónea AUC/MPC para evitar la selección de cepas mutantes.

En el caso de la enrofloxacin, como se observa en la tabla 88 para la formulación convencional administrada por las vías IV, IM y SC, el tiempo en que las concentraciones plasmáticas están por encima de las MPC es del 100% si consideramos un intervalo entre dosis de 12 horas, salvo en la administración IV para *Salmonella spp.* (83.3 %). En cambio en el caso de la formulación retardada (ver tabla 89), el $T_{>MPC}$ se encuentra entre el 51.55 % -59.26 % para *Salmonella spp* y 63,32-71,28 % para *E coli*.

Olofsson y col., en 2006 y 2007, refiriéndose a estudios con ciprofloxacina, exponen que una relación AUC/MPC con valores superiores a 35 fueron suficientes para prevenir el desarrollo de resistencias por mutación simple, mientras que con valores de 14 o inferiores se consideraban insuficientes, y en el mismo sentido indican que se requieren $T_{>MPC}$ superiores al 33 % del intervalo de dosis para prevenir este desarrollo de resistencias.

Si utilizamos la ecuación propuesta por McKellar y col., en 2004 [dosis = (AUC/MIC•Cl•MIC)/F] para el tratamiento de procesos infecciosos y considerando un valor de AUC/MIC de 125, con las dosis seleccionadas de 5 mg/kg día, y un Cl de 0.09 L/kg•h para marbofloxacina y Cl de 0.11 L/kg•h, para la enrofloxacin, podríamos actuar adecuadamente frente a todos aquellos microorganismos que tuvieran una MIC₉₀ (punto de corte) de 0.44 µg/mL para marbofloxacina y de 0.36 µg/mL para enrofloxacin.

Por tanto, y como hemos comentado anteriormente manteniendo toda la cautela posible, y a falta de su confirmacion en estudios posteriores, las dosis y regímenes seleccionados en este estudio, se podrían acercar a una situación deseable en el tratamiento antimicrobiano, como es conseguir una buena eficacia clínica y bacteriológica y a su vez, no promover el incremento de resistencias, ya que permiten conseguir que el porcentaje de tiempo por encima de las MPC sea superior al obtenido con dosis mas bajas o con intervalos interdosis mas prolongados. Todo ello desde un punto de vista teórico ya que no disponemos de datos reales de valores de MPC frente a los principales patógenos en llamas, ni cuales son los ratios de estos índices, que nos permitan afirmar que hemos seleccionado un régimen posológico adecuado.

Por último, y como buena práctica clínica, podemos concluir que si no es factible instaurar una terapia lo antes posible, para que el tamaño de la carga bacteriana sea menor (metafilaxis o profilaxis) como recomiendan Kesteman y col., en 2009, al menos deberemos conseguir unos niveles plasmáticos y tisulares que nos aseguren la eficacia y seguridad del tratamiento.

VI. Conclusiones

- 1.- El análisis de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo, tras la administración intravenosa de marbofloxacin y enrofloxacin en llamas, se ajusta en ambos casos a un modelo bicompartimental abierto de primer orden.
- 2.- La administración parenteral de marbofloxacin (vías IM y SC) a dosis única presenta una elevada biodisponibilidad. Las concentraciones plasmáticas alcanzadas por estas vías son similares a las descritas en otros camélidos y superiores a las de otras especies rumiantes, si bien se necesita más tiempo para alcanzarlas. Ambas vías se muestran como bioequivalentes.
- 3.- La administración parenteral de enrofloxacin (vías IM y SC) a dosis única presenta una elevada biodisponibilidad. Tanto las concentraciones plasmáticas máximas alcanzadas como el tiempo necesario para ello, son superiores, en general, a las descritas en camélidos y rumiantes. Ambas vías se muestran como bioequivalentes.
- 4.- Los datos obtenidos, en llamas adultas, tras la administración de marbofloxacin por las diferentes vías indican que esta molécula presenta una buena penetración en los tejidos (basado en su elevado volumen de distribución) y una baja capacidad de aclaramiento plasmático, lo que implica una prolongada permanencia en el organismo, ratificado por los valores de semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$) y tiempo medio de residencia (MRT) y, consecuentemente, permite la utilización de regímenes posológicos prolongados ($\tau = 24h$).
- 5.- Los datos obtenidos tras la administración de enrofloxacin por las diferentes vías, en llamas adultas, permiten afirmar que esta molécula presenta una buena penetración en los tejidos (basado en su elevado volumen de distribución), una baja capacidad de aclaramiento plasmático y una escasa capacidad de conversión metabólica a ciprofloxacin (1,13%). Los parámetros indicativos de su permanencia en el organismo [semivida de eliminación ($t_{1/2\lambda}$) y tiempo medio de residencia (MRT)] recomiendan establecer periodos interdosis (τ) de 12 h.
- 6.- La administración SC de marbofloxacin en dosis múltiple cada 24 horas ($n = 5$ dosis) así como de enrofloxacin en dosis múltiple cada 12 h ($n = 9$ dosis) no provocan procesos de acumulación, ni modificaciones en los principales parámetros cinéticos (ya que no se observan diferencias estadísticamente significativas en la comparación inter-dosis ni frente a las vías IM o SC a dosis única).
- 7.- Los índices C_{max}/MIC y AUC/MIC obtenidos para las especies bacterianas seleccionadas, causantes de las principales patologías infecciosas, digestivas y respiratorias, que afectan a las llamas en las diferentes etapas de su vida, defienden la eficacia y seguridad potencial de estas moléculas en los diferentes regímenes posológicos estudiados.

- 8.- La formulación de enrofloxacin LA administrada vía SC en dosis única de 15 mg/kg de peso corporal, se caracteriza por una biodisponibilidad y una concentración máxima (C_{max}) en proporción, menores a los de la formulación convencional, mientras que el tiempo necesario para alcanzar esta concentración (T_{max}), así como el tiempo de permanencia en el organismo, son superiores a dicha formulación.
- 9.- Los parámetros farmacocinéticos estudiados tras la aplicación de dos dosis sucesivas de enrofloxacin LA (15 mg/kg) vía SC, con un intervalo de 72 horas, no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí. Los índices de eficacia C_{max}/MIC y AUC/MIC , obtenidos con este régimen posológico, mantienen la eficacia y seguridad del régimen evaluado con la formulación convencional, lo que permite un menor manejo de los animales y por tanto una disminución del estrés asociado a este manejo.
- 10.- La evolución de los niveles séricos de CPK observados tras la administración de los diferentes regímenes estudiados para marbofloxacin y enrofloxacin, muestran una escasa irritación (toxicidad tisular) en el punto de aplicación, especialmente por la vía SC, por lo que dada su bioequivalencia con la vía IM, consideramos la administración SC como vía de elección.
- 11.- Las llamas presentan un comportamiento farmacocinético particular, con similitudes en algunos casos, al observado en otros camélidos, y netamente distinto al de otras especies rumiantes, lo que confirma el riesgo sanitario (bienestar animal, salud pública y medioambiental) de realizar extrapolaciones de regímenes posológicos entre especies.

VII. Resumen

VII.1.- Resumen en español

La marbofloxacin y la enrofloxacin son antimicrobianos pertenecientes al grupo de las fluoroquinolonas, desarrolladas exclusivamente para uso veterinario, que han demostrado poseer unas características farmacocinéticas adecuadas para su uso en diversas especies.

El objetivo de este trabajo fue definir el comportamiento farmacocinético de la marbofloxacin y enrofloxacin en llamas (*Lama glama*), a dosis de 5 mg/kg de peso corporal. Para ello se estudió la disposici3n del fármaco tras la administraci3n intravenosa, intramuscular y subcutánea en dosis única y subcutánea en dosis múltiple (marbofloxacin: 5 administraciones, intervalo de dosis $\tau = 24$ horas; enrofloxacin: 9 administraciones, intervalo de dosis $\tau = 12$ horas), así como una presentaci3n LA (duraci3n prolongada) de enrofloxacin, a dosis de 15 mg/kg pv, en dosis única y múltiple (2 administraciones, intervalo de dosis $\tau = 72$ horas).

Marbofloxacin: Tras su administraci3n intravenosa, presentó un alto valor de distribuci3n V_z (1,26 L/kg), una eliminaci3n relativamente lenta ($Cl = 0,09$ L/kg·h; $t_{1/2\lambda} = 9,16$ h) y una prolongada permanencia en el organismo ($MRT_{last} = 7,3$ h). En las administraciones intramuscular y subcutánea a dosis única, presentaron una alta biodisponibilidad ($F = 128,14$ % IM y $148,42$ % SC), una C_{max} de 7,43 μ g/ml para la vía IM y 6,94 μ g/ml para la vía SC y un T_{max} de 1,17 h (IM) y 1,83 h (SC). Su permanencia en el organismo es relativamente larga con valores de $t_{1/2\lambda} = 8,47$ h para la vía IM y 6,26 h para la vía SC y de $MRT_{last} = 8,21$ h para la vía IM y 8,27 h, para la vía SC.

Tras las administraciones múltiples no se apreciaron procesos de acumulaci3n. La comparaci3n entre las diferentes vías estudiadas (IV, IM, SCdu y SCdm), puso de manifiesto la ausencia de diferencias estadísticas, en los diferentes parámetros farmacocinéticos estudiados, a excepci3n de $t_{1/2\lambda}$ entre la IV con la IM y entre la 3ª y 5ª dosis de SCdm. También el MRT presentó diferencias entre la 3ª dosis SC y la 1ª dosis SC y SCdu.

Enrofloxacin: Tras su administraci3n IV, presentó un valor intermedio de distribuci3n ($V_z = 0,64$ L/kg), una eliminaci3n lenta ($Cl = 0,11$ L/kg·h; $t_{1/2\lambda} = 4,08$ h) y una permanencia en el organismo menor que la marbofloxacin ($MRT_{last} = 4,64$ h). Las administraciones IM y SC mostraron una alta biodisponibilidad ($F = 94,07$ % para la vía IM y $88,31$ % para la vía SC), una C_{max} de 3,78 μ g/ml para la vía IM y 3,26 μ g/ml para la vía SC y un T_{max} de 2,17 h para la vía IM y 2,50 h para la vía SC. La permanencia en el organismo es semejante a la lograda por vía IV ($t_{1/2\lambda} = 5,04$ h y 3,98 h y $MRT_{last} = 7,28$ h y 7,40 h, para las administraciones IM y SC respectivamente).

Tras las nueve administraciones cada 12 horas, no se apreciaron procesos de acumulaci3n. La comparaci3n entre las diferentes vías estudiadas (IV, IM, SCdu y SCdm), puso de manifiesto la ausencia de diferencias estadísticamente

significativas, en los diferentes parámetros farmacocinéticos estudiados, a excepción de la $t_{1/2\lambda}$ entre la 1ª dosis SCdm con la IV y SCdu y entre la 9ª SCdm con IV e IM; el MRT presentó diferencias entre IV, IM y SCdu.

La presentación LA en dosis única mostró una menor biodisponibilidad ($F = 53,31\%$), con una C_{\max} de $4,92\ \mu\text{g/ml}$ y más del doble de tiempo en alcanzar esta concentración frente a la formulación convencional ($T_{\max} = 7,33\ \text{h}$). En cambio el tiempo de permanencia se alarga notablemente ($t_{1/2\lambda} = 6,47\ \text{h}$ y $\text{MRT}_{\text{last}} = 11,91\ \text{h}$). La formulación LA administrada por la vía subcutánea en dosis múltiple no presentó diferencias estadísticamente significativas.

En conjunto el comportamiento farmacocinético de marbofloxacin y enrofloxacin en las llamas es parecido al de otros camélidos (alpacas y camellos), presentando una C_{\max} superiores al resto de especies, pero tardan más tiempo en alcanzarlo.

En el caso de la marbofloxacin, la $t_{1/2\lambda}$ y el MRT son ligeramente superiores a los de otras especies; esto indica que el tiempo de permanencia del fármaco en el organismo es mayor para esta especie, hecho que pudiera estar relacionado con el bajo valor de aclaramiento y capacidad de extracción ($E = 2,1\%$), relacionado a su vez entre otros factores, con la capacidad de filtración glomerular. Los camélidos son capaces de pasar muchas horas en condiciones de privación de agua.

En el caso de la enrofloxacin, los parámetros relacionados con la permanencia en el organismo, son semejantes a los de otras especies de camélidos o rumiantes, manteniendo igualmente un bajo valor de aclaramiento y capacidad de extracción ($E = 2,6\%$).

Con los regímenes posológicos estudiados (vías de administración, dosis e intervalo de dosis) y basándonos en los datos obtenidos en los diferentes índices (C_{\max}/MIC , AUC/MIC , AUC/MPC y $T_{>\text{MPC}}$), la marbofloxacin y la enrofloxacin demuestran su posible eficacia frente al tratamiento de procesos infecciosos digestivos y respiratorios causados por las bacterias seleccionadas y consideradas principales responsables de este tipo de patologías en las llamas; e incluso, a esta dosis ($5\ \text{mg/kg}$), se considera posible reducir el riesgo de selección de cepas mutantes resistentes. Por último, los índices AUC/MIC y AUC/MPC son más favorables para la marbofloxacin y similares para la enrofloxacin en las administraciones extravasculares (SC e IM) frente a la administración IV, por lo que estas vías resultan más recomendables desde el punto de vista clínico.

VII.2.- Summary

Marbofloxacin and enrofloxacin are antibacterial agents belong to the group of the fluoroquinolones. They are developed exclusively for veterinary use, have shown adequate pharmacokinetic characteristics in several species.

The goal of this work was to study the pharmacokinetic behavior of marbofloxacin and enrofloxacin in llamas (*Lama glama*) with a dose of 5 mg/kg bw. We studied the disposition of the drug after IV, IM and SC administration in single dose and SC in multiple dose (marbofloxacin: 5 administrations, interval dosage $\tau = 24$ h; enrofloxacin: 9 administrations, interval dosage $\tau = 12$ h) as a LA (Long Acting) presentation of enrofloxacin in dose of 15 mg/kg bw in single and multiple dose (2 administrations, interval dosage $\tau = 72$ h).

Marbofloxacin: the IV administration had a high value of volume of distribution V_z (1.26 L/kg), a relatively slow elimination ($Cl = 0.09$ L/kg·h; $t_{1/2\lambda} = 9.16$ h) and a slightly higher permanence ($MRT_{last} = 7.3$ h). The single dose IM and SC administration showed a high bioavailability ($F = 128.14\%$ IM and 148.42% SC), a C_{max} of 7.43 $\mu\text{g/ml}$ for IM and 6.94 $\mu\text{g/ml}$ for SC and a T_{max} of 1.17 h (IM) and 1.83 h (SC). Its permanence is relatively long with values of $t_{1/2\lambda} = 8.47$ h for IM and 6.26 h for SC and $MRT_{last} = 8.21$ h for IM and 8.27 h for SC.

After multiple administrations it revealed no accumulation processes. The comparison between the different routes studied (IV, IM, SCsd and SCmd), revealed the absence of statistical differences in the pharmacokinetic parameters studied, except $t_{1/2\lambda}$ between the IM and IV, and between the 3th and 5th doses in SCmd administration. MRT also showed differences between the 3th SCmd and 1st SCmd and SCsd doses.

Enrofloxacin: After intravenous administration, it showed an intermediate volume of distribution ($V_z = 0.64$ L / kg), a slow elimination ($Cl = 0.11$ L/kg·h; $t_{1/2\lambda} = 4.08$ h) and a permanence less than marbofloxacin ($MRT_{last} = 4.64$ h). The IM and SC administrations showed a high bioavailability ($F = 94.07\%$ for IM and 88.31% for SC), a C_{max} of 3.78 $\mu\text{g/ml}$ for IM and 3.26 $\mu\text{g/ml}$ SC and a T_{max} of 2.17 h for IM and 2.50 h for SC. The permanence is similar to intravenous administration ($t_{1/2\lambda} = 5.04$ h and 3.98 h and $MRT_{last} = 7.28$ h and 7.40 for IM and SC administration, respectively).

There were no processes of accumulation, after 9 doses every 12 horas. The comparison among the different routes studied (IV, IM, SCsd and SCmd administration), revealed the absence of significant differences in the pharmacokinetic parameters studied, except for the $t_{1/2\lambda}$ between 1st SCsd with the IV and SCsd and between the 9th SCmd IV and IM; the MRT showed differences between IV, IM and SCsd administration.

The presentations of enrofloxacin LA in single dose showed a lower bioavailability ($F = 53.31\%$), with a C_{max} of 4.92 $\mu\text{g/ml}$ and took more than twice

as long time to reach this concentration compared with the conventional formulation ($T_{\max} = 7.33$ h). In contrast, the residence time is lengthened significantly ($t_{1/2\lambda} = 6.47$ h and $MRT_{\text{last}} = 11.91$ h). LA formulation administered subcutaneously in multiple doses showed no statistically significant differences.

Overall, the pharmacokinetic behavior of marbofloxacin and enrofloxacin in the llamas is similar to other camelids (alpacas and camels), showing a higher C_{\max} regarded to other species but taking longer to reach it.

In the case of marbofloxacin, the $t_{1/2\lambda}$ and MRT are slightly higher than those of other species, indicating that the MRT of drug in the body is greater for this specie, a fact that may be related to the low value of clearance and extraction capacity ($E = 2.1\%$), linked between other factors with the glomerular filtration capacity. The camels are able to spend many hours under water deprivation.

In the case of enrofloxacin, the parameters related to the permanence, are similar to those of other species of camelids or ruminants, also maintaining a low value of clearance and extraction capacity ($E = 2.6\%$).

Taking into account the dosing regimens studied (routes of administration, dosage and dosing interval) and based on rates obtained at different efficacy indices (C_{\max}/MIC , AUC/MIC , AUC/MPC and $T_{>MPC}$), marbofloxacin and enrofloxacin have demonstrated their potential effectiveness to treat diarrheas and respiratory infections caused by selected bacteria and which are considered the most responsible for this type of pathologies in the llamas, and even at the studied dose (5 mg/kg) to reduce the risk of selection of resistant mutant strains. Finally the indices AUC/MIC and AUC/MPC are more favorable, in the case of marbofloxacin and similar in the case of enrofloxacin, for extravascular administrations (SC and IM) against the IV, therefore these routes are the most recommendable from a clinical standpoint.

VIII. Bibliografía

- Abadía, A.R. (1991) Estudio farmacocinético de quinolonas: ciprofloxacina en perro. Tesis. Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia.
- Abadia, A.R., Aramayona, J.J., Munoz, M.J., Pla Delfina, J.M., Saez, M.P. and Bregante, M.A. (1994) Disposition of ciprofloxacin following intravenous administration in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 17, (5)384-388.
- Abd El-Aty, A.M., Goudah, A., Shah, S.S., Shin, H.C., Shimoda, M. and Shim, J.H. (2007) Pharmacokinetic variables of moxifloxacin in healthy male camels following intravenous and intramuscular administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30, (6)586-591.
- Abd el-Aziz, M.I., Aziz, M.A., Soliman, F.A. and Afify, N.A. (1997) Pharmacokinetic evaluation of enrofloxacin in chickens. *British Poultry Science*, 38, (2)164-168.
- Abo-El-Sooud, K. and Goudah, A. (2009) Pharmacokinetics and intramuscular bioavailability of difloxacin in dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *Veterinary Journal*, 179, (2)282-286.
- Adams, A.R., Haines, G.R., Brown, M.P., Gronwall, R. and Merritt, K. (2005) Pharmacokinetics of difloxacin and its concentration in body fluids and endometrial tissues of mares after repeated intragastric administration. *Canadian Journal of Veterinary Research. Revue Canadienne de Recherche Veterinaire*, 69, (3)229-235.
- Akahane, K., Sekiguchi, M., Une, T. and Osada, Y. (1989) Structure-epileptogenicity relationship of quinolones with special reference to their interaction with gamma-aminobutyric acid receptor sites. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33, (10)1704-1708.
- Albarellos, G.A., Montoya, L. and Landoni, M.F. (2005) Pharmacokinetics of marbofloxacin after single intravenous and repeat oral administration to cats. *Veterinary Journal*, 170, (2)222-229.
- Ali, B.H., Oukessou, M. and Bashir, A.K. (1996) Pharmacokinetic considerations in the camel (*Camelus dromedarius*): a review. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Pharmacology, Toxicology & Endocrinology*, 115, (1)1-9.
- Aliabadi, F.S., Ali, B.H., Landoni, M.F. and Lees, P. (2003) Pharmacokinetics and PK-PD modelling of danofloxacin in camel serum and tissue cage fluids. *Veterinary Journal*, 165, (2)104-118.
- Aliabadi, F.S. and Lees, P. (2002) Pharmacokinetics and pharmacokinetic/pharmacodynamic integration of marbofloxacin in calf serum, exudate and transudate. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 25, (3)161-174.
- Alzola, R.H., Ghezzi, M.D., Gimeno, E.J., Lupidio, M.C., Castro, A. and Rodríguez, J.A. (2004) Topografía y morfología del estómago de llama (*Lama glama*). *International Journal of Morphology*, 22, (2)155-164.
- Ambrose, P.G., Grasela, D.M., Grasela, T.H., Passarell, J, Mayer, H.B., Pierce, P.F. (2001) Pharmacodynamics of fluoroquinolones against *Streptococcus pneumoniae* in patients with community-acquired respiratory tract infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(10):2793-2797

- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Iturbe, J., Martínez, M.A., Diaz, M.J., Frejo, M.T. and Martínez, M. (2001) Pharmacokinetics and residues of ciprofloxacin and its metabolites in broiler chickens. *Research in Veterinary Science*, 71, (2)101-109.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Diaz, M.J., Fernandez-Cruz, M.L., Martínez, M.A., Frejo, M.T., Martínez, M., Iturbe, J. and Tafur, M. (1999) Pharmacokinetic variables and tissue residues of enrofloxacin and ciprofloxacin in healthy pigs. *American Journal of Veterinary Research*, 60, (11)1377-1382.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Diaz, M.J., Bringas, P., Martínez, M.A., Fernandez-Cruz, M.L., Fernandez, M.C. and Fernandez, R. (1995a) Pharmacokinetics and residues of enrofloxacin in chickens. *American Journal of Veterinary Research*, 56, (4)501-506.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Diaz, M.J., Fernandez, R., Martínez, M.A. and Fernandez, M.C. (1995b) Pharmacokinetics and tissue residues of norfloxacin and its N-desethyl- and oxo-metabolites in healthy pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 18, (3)220-225.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Velez, C., Diaz, M.J. and Bringas, P. (1992) Pharmacokinetics of norfloxacin and its N-desethyl- and oxo-metabolites in broiler chickens. *American Journal of Veterinary Research*, 53, (11)2084-2089.
- Andriole, V.T. (1988) Clinical Overview of the Newer 4-Quinolone Antibacterial Agents. *The Quinolones*, (1ª edición), 155-200.
- Apley, M.D. and Upson, D.W. (1993) Lung tissue concentrations and plasma pharmacokinetics of danofloxacin in calves with acute pneumonia. *American Journal of Veterinary Research*, 54, (6)937-943.
- Appelbaum, P.C. (1999) Quinolone activity against anaerobes. *Drugs*, 58 Suppl 2, 60-64.
- Aramayona, J.J., Mora, J., Fraile, L.J., Garcia, M.A., Abadia, A.R. and Bregante, M.A. (1996) Penetration of enrofloxacin and ciprofloxacin into breast milk, and pharmacokinetics of the drugs in lactating rabbits and neonatal offspring. *American Journal of Veterinary Research*, 57, (4)547-553.
- Aramayona, J.J., García, M.A., Fraile, L.J., Abadía, A.R. and Bregante, M.A. (1994) Placental transfer of enrofloxacin and ciprofloxacin in rabbits. *American Journal of Veterinary Research*, 55, 1313-1318.
- Atef, M., el-Banna, H.A., Abd El-Aty, A.M. and Goudah, A. (2002) Pharmacokinetics of difloxacin in goats. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 109, (7)320-323.
- Atef, M., El-Gendi, A.Y., Aziza, Amer, M.M. and Abd El-Aty, A.M. (2001) Some pharmacokinetic data for danofloxacin in healthy goats. *Veterinary Research Communications*, 25, (5)367-377.
- Atta, A.H. and Sharif, L. (1997) Pharmacokinetics of ciprofloxacin following intravenous and oral administration in broiler chickens. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (4)326-329.
- Bailey, T.A., Sheen, R.S., Silvanose, C., Samour, J.H., Garner, A. and Harron, D.W. (1998) Pharmacokinetics

- of enrofloxacin after intravenous, intramuscular and oral administration in houbara bustard (*Chlamydotis undulata macqueenii*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 21, (4)288-297.
- Barry, A.L., Fuchs, P.C. and Brown, S.D. (2001) *In vitro* activities of three nonfluorinated quinolones against representative bacterial isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45, (6)1923-1927.
- Barry, A.L. (1989) *In vitro* activities of the quinolone antimicrobial agents. *International Telesymposium on Quinolones*, 1ª edición, 237-254.
- Bennett, J.V., Brodie, J.L., Benner, E.J. and Kirby, W.M. (1966) Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. *Applied Microbiology*, 14, (2)170-177.
- Bermingham, E.C. and Papich, M.G. (2002) Pharmacokinetics after intravenous and oral administration of enrofloxacin in sheep. *American Journal of Veterinary Research*, 63, (7)1012-1017.
- Bermingham, E.C., Papich, M.G. and Vivrette, S.L. (2000) Pharmacokinetics of enrofloxacin administered intravenously and orally to foals. *American Journal of Veterinary Research*, 61, (6)706-709.
- Bidgood, T.L. and Papich, M.G. (2005) Plasma and interstitial fluid pharmacokinetics of enrofloxacin, its metabolite ciprofloxacin, and marbofloxacin after oral administration and a constant rate intravenous infusion in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 28, (4)329-341.
- Boeckh, S., Buchanan, C., Boeckh, A., Wilkie, S., Davis, C., Buchanan, T. and Boothe, D. (2001) Pharmacokinetics of the bovine formulation of enrofloxacin (Baytril 100) in horses. *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine*, 2, (2)129-134.
- Boswell, F.J. and Wise, R. (1998) Advances in the macrolides and quinolones. *Infectious Disease Clinics of North America*, 12, 647-670.
- Bousquet-Melou, A., Bernard, S., Schneider, M. and Toutain, P.L. (2002) Pharmacokinetics of marbofloxacin in horses. *Equine Veterinary Journal*, 34, (4)366-372.
- Bousquet-Melou, A., Schneider, M., Woehrlé, F. and Toutain, P.L. (2000) Safe use of marbofloxacin with medetomidine-ketamine combination in dog. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (suppl 1)186.
- Bousquet-Melou, A., Cester, C.C., Serthelon, J.P., Gruet, P. and Toutain, P.L. (1997) Pharmacodynamic study of the potential epileptic effect of combination therapy with marbofloxacin-tolfenamic acid in the dog. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (suppl 1)186.
- Bregante, M.A., De Jong, A., Aramayona, J.J., García, M.A., Solans, C. and Rueda, S. (2000) Protein binding of fluoroquinolones applied to livestock and companion animals. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 23, (suppl. 1)B16.
- Bregante, M.A., Saez, P., Aramayona, J.J., Fraile, L., Garcia, M.A. and Solans, C. (1999) Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin in mice, rats, rabbits, sheep, and cows. *American Journal of Veterinary Research*, 60, (9)1111-1116.

- Broome, R.L., Brooks, D.L., Babish, J.G., Copeland, D.D. and Conzelman, G.M. (1991) Pharmacokinetic properties of enrofloxacin in rabbits. *American Journal of Veterinary Research*, 52, (11)1835-1841.
- Brown, S.A. (1996) Fluoroquinolones in animal health. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 19, (1)14.
- Bryskier, A. and Chantot, J.F. (1995) Classification and structure-activity relationships of fluoroquinolones. *Drugs*, 49 (suppl. 2), 16-28.
- Bugyei, K., Black, W.D. and McEwen, S. (1999) Pharmacokinetics of enrofloxacin given by the oral, intravenous and intramuscular routes in broiler chickens. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 63, (3)193-200.
- Cabanes, A., Arboix, M., Garcia Anton, J.M. and Reig, F. (1992) Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular injection in rabbits. *American Journal of Veterinary Research*, 53, (11)2090-2093.
- Campbell, T.W. (1995) Avian hematology and cytology, 3. Iowa State University Press.
- Carceles, C.M., Escudero, E., Fernandez-Varon, E. and Marin, P. (2009) Pharmacokinetics after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration of moxifloxacin in sheep. *Veterinary Journal*, 180, (3)343-347.
- Carpenter, J.W., Pollock, C.G., Koch, D.E. and Hunter, R.P. (2009) Single- and multiple-dose pharmacokinetics of marbofloxacin after oral administration to rabbits. *American Journal of Veterinary Research*, 70, (4)522-526.
- Carpenter, J.W., Hunter, R.P., Olsen, J.H., Henry, H., Isaza, R. and Koch, D.E. (2006) Pharmacokinetics of marbofloxacin in blue and gold macaws (*Ara ararauna*). *American Journal of Veterinary Research*, 67, (6)947-950.
- Carretero, M., Rodríguez, C., San Andrés, M.I., Fores, P., de Lucas, J.J., Nieto, J., Waxman, S., San Andrés, M.D., and González, F. (2002) Pharmacokinetics of marbofloxacin in mature horses after single intravenous and intramuscular administration. *Equine Veterinary Journal*, 34, (4)360-365.
- Castro, A.N., Ghezzi, M.D., Alzola, R.H., Lupidio, M.C. and Rodríguez, J.A. (2001) Morfología del hígado de llama (*Lama glama*). *Revista Chilena de Anatomía*, 19, (3)
- Cester, C.C. and Toutain, P.L. (1997) A comprehensive model for enrofloxacin to ciprofloxacin transformation and disposition in dog. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86,(10)1148-1155.
- Cester, C.C., Schneider, M. and Toutain, P.L. (1996) Comparative kinetics of two orally administered fluoroquinolones in dog: Enrofloxacin versus Marbofloxacin. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 147, 703-706.
- Chamberland, S., Bayer, A.S., Schollaardt, T., Wong, S.A. and Bryan, L.E. (1989) Characterization of mechanisms of quinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in vitro and in vivo during experimental endocarditis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33, (5)624-634.
- Christensen, J.M., Smith, B.B., Murdane, S.B. and Hollingshead, N.

- (1996) The disposition of five therapeutically important antimicrobial agents in llamas. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 19, (6)431-438.
- CVMP/VICH/591/98-FINAL (1998) VICH Topic GL2 (Validation: Metodology) Guideline of validation of analytical procedures: methodology. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004340.pdf
- CVMP/VICH/590/98-FINAL (1998) VICH Topic GL1 (Validation: Definition) Guideline on validation of analytical procedures: definition and terminology. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004341.pdf
- CVMP/VICH/595/98-FINAL (1998) VICH Topic GL 9 (GCP) Guidelines on Good Clinical Practice. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004596.pdf
- Community legislation in Directives 88/320/EEC14 (1988) (GLP) All safety studies shall be conducted in conformity with the principles of Good Laboratory Practice. ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-8/.../vol8_10-2005
- Community legislation in Directives 87/18/EEC13 (1986) (GLP) All safety studies shall be conducted in conformity with the principles of Good Laboratory Practice. http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-8/pdf/vol8_10-2005_en.pdf
- Cotard, J.P., Gruet, P., Pechereau, D., Moreau, P., Pages, J.P., Thomas, E. and Deleforge, J. (1995) Comparative study of marbofloxacin and amoxicillin-clavulanic acid in the treatment of urinary tract infections in dogs. *The Journal of Small Animal Practice*, 36, (8)349-353.
- Cox, S.K. (2007) Allometric scaling of marbofloxacin, moxifloxacin, danofloxacin and difloxacin pharmacokinetics: a retrospective analysis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30, (5)381-386.
- Cox, S.K., Cottrell, M.B., Smith, L., Papich, M.G., Frazier, D.L. and Bartges, J. (2004) Allometric analysis of ciprofloxacin and enrofloxacin pharmacokinetics across species. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27, (3)139-146.
- Craig, W.A. (1998) Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical Infectious Diseases* 26, 1-10, quiz 11-12.
- da Silva, R.G., Reyes, F.G., Sartori, J.R. and Rath, S. (2006) Enrofloxacin assay validation and pharmacokinetics following a single oral dose in chickens. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29, (5)365-372.
- Davis, J.L., Foster, D.M. and Papich, M.G. (2007) Pharmacokinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its active metabolite ciprofloxacin in calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30,(6)564-571.
- de Lucas, J.J., Navarro, J.L., Rubio, S., Vignolo, P.E., Asis, V.C., González, F. and Rodríguez, C. (2008a) Pharmacokinetic behaviour of enrofloxacin in greater rheas following a single-dose intramuscular administration. *Veterinary Journal*, 175, (1)136-138.

- de Lucas, J.J., San Andrés, M.I., González, F., Froyman, R. and Rodríguez, C. (2008b) Pharmacokinetic behaviour of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after subcutaneous administration in cattle. *Veterinary Research Communications*, 32, (4)275-279.
- de Lucas, J.J., Solano, J.G, Carello, M., Carina Asis, V. (2008c) Uso racional de antimicrobianos en avicultura: enrofloxacin en ñandúes. *Panorama Actual del Medicamento*, 305, (31)765-778.
- de Lucas, J.J., Rodríguez, C., Martella, M.B., Labaque, M.C., Navarro, J.L. and San Andrés, M.I. (2005a) Pharmacokinetics of enrofloxacin following intravenous administration to greater rheas: a preliminary study. *Research in Veterinary Science*, 78, (3)265-267.
- de Lucas, J.J., Rodríguez, C., Waxman, S., González, F., Uriarte, I. and San Andrés, M.I. (2005b) Pharmacokinetics of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administration to ostriches. *Veterinary Journal*, 170, (3)364-368.
- de Lucas, J.J., Rodríguez, C., Waxman, S., González, F., de Vicente, M.L. and San Andrés, M.I. (2004) Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous and intramuscular administration in young domestic ostrich (*Struthio camelus*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27, (2)119-122.
- Debbia, E.A., Maioli, E., Roveta, S. and Marchese, A. (2008) Effects of rifaximin on bacterial virulence mechanisms at supra- and sub-inhibitory concentrations. *Journal of Chemotherapy* (Florence, Italy), 20, (2)186-194.
- Dimitrova, D.J., Lashev, L.D., Yanev, S.G. and Pandova, B. (2007) Pharmacokinetics of enrofloxacin in turkeys. *Research in Veterinary Science*, 82, (3)392-397.
- Dimitrova, D.J., Lashev, L.D., Yanev, S.G. and Pandova, V.T. (2006) Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in male and female turkeys following intravenous and oral administration. *Veterinary Research Communications*, 30, (4)415-422.
- Directive of the European Parliament and of the Council. 2004/9/EC 11 February (2004) The inspection and verification of good laboratory practice (GLP). <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:050:0028:0043>
- Dorfman, M., Barsanti, J. and Budsberg, S.C. (1995) Enrofloxacin concentrations in dogs with normal prostate and dogs with chronic bacterial prostatitis. *American Journal of Veterinary Research*, 56, (3)386-390.
- Dorrestein, G.M. (1992) Enrofloxacin in pet avian and exotic animal therapy. *Proceedings 1st International Baytril Symposium*. Bonn, 63-72.
- Dova, S.W., San Andrés, M.D., González, F., San Andrés, M.I., De Lucas, J.J. and Rodríguez, C. (2007) Pharmacokinetic behavior and pharmacokinetic/pharmacodynamic integration of marbofloxacin after subcutaneous administration in goats. *Veterinary Journal*, 174, (2)425-427.
- Dowling, P.M., Wilson, R.C., Tyler, J.W. and Duran, S.H. (1995) Pharmacokinetics of ciprofloxacin in ponies. *Journal of Veterinary*

- Pharmacology and Therapeutics*, 18, (1)7-12.
- El Bahri, L. and Blouin, A. (1991) Fluoroquinolones: A New Family of Antimicrobials. *The Compendium of Continuing Education*, 13, 1429-1433.
- el-Banna, H.A. and Abo el-Sooud, K. (1998) Disposition kinetics of ciprofloxacin in lactating goats. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 105, (1)35-38.
- El-Gendi, A.Y., el-Banna, H.A., Abo Norag, M. and Gaber, M. (2001) Disposition kinetics of danofloxacin and ciprofloxacin in broiler chickens. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 108, (10)429-434.
- Elmas, M., Uney, K., Yazar, E., Karabacak, A. and Tras, B. (2007) Pharmacokinetics of enrofloxacin following intravenous and intramuscular administration in Angora rabbits. *Research in Veterinary Science*, 82, (2)242-245.
- Elmas, M., Tras, B., Kaya, S., Bas, A.L., Yazar, E. and Yarsan, E. (2001) Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular administration in Angora goats. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 65, (1)64-67.
- Elsheikh, H.A., Taha, A.A., Khalafallah, A.I. and Osman, I.A. (2002) Disposition kinetics of enrofloxacin (Baytril 5%) in sheep and goats following intravenous and intramuscular injection using a microbiological assay. *Research in Veterinary Science*, 73, (2)125-129.
- EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 (2009) Guideline on validation of bioanalytical methods. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/12/WC500018062.pdf
- EMEA/CVMP/016/00-corr-FINAL. (2000) Guidelines for the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004304.pdf
- EMEA/CVMP/133/99-FINAL (1999) Guidelines for the conduct of pharmacokinetic studies in target animal species. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004355.pdf
- EMEA/MRL/693/99-FINAL (1999). http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014745.pdf
- EMEA/MRL/079/96-FINAL (1996). http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014864.pdf
- Fang, B.H., Feng, Q.H., Chen, Z.L. and Wang, Z.Q. (1999) Bioavailability and pharmacokinetics of ciprofloxacin in pigs. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 19, 588-590.
- Fernandes, P.B., Shipkowitz, N., Bower, R.R., Jarvis, K.P., Weisz, J. and Chu, D.T. (1986) *In vitro* and *in vivo* potency of five new fluoroquinolones against anaerobic bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 18, (6)693-701.
- Fernandez-Baca, S. (2005) Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina.

- TCP/RLA/2914. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).
- Fernandez-Varon, E., Marin, P., Escudero, E., Vancraeynest, D. and Carceles, C.M. (2007) Pharmacokinetic-pharmacodynamic integration of danofloxacin after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration to rabbits. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30, (1)18-24.
- Fernandez-Varon, E., Bovaira, M.J., Espuny, A., Escudero, E., Vancraeynest, D. and Carceles, C.M. (2005) Pharmacokinetic-pharmacodynamic integration of moxifloxacin in rabbits after intravenous, intramuscular and oral administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 28, (4)343-348.
- Ferrán Aranaz, M. (1996) SPSS para Windows. Programación y análisis estadístico.
- Fish, D.N. (2001) Fluoroquinolone adverse effects and drug interactions. *Pharmacotherapy*, 21, (10 Pt 2)253S-272S.
- Fitton, A. (1992) The Quinolones. An Overview of their Pharmacology. *Clinical Pharmacokinetics*, 22, ((suppl 1)1-11.
- Fowler, M.E. and Zinkl, J.G. (1989) Reference ranges for hematologic and serum biochemical values in llamas (*Lama glama*). *American Journal of Veterinary Research*, 50, (12)2049-2053.
- Forrest, A., Nix, D.E., Ballow, C.H., Goss, T.F., Birmingham, M.C. and Schentag, J.J. (1993) Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 37, 1073-1081.
- Frazier, D.L., Thompson, L., Trettien, A. and Evans, E.I. (2000) Comparison of fluoroquinolone pharmacokinetic parameters after treatment with marbofloxacin, enrofloxacin and difloxacin in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 23, (5)293-302.
- Freixas, J., Matorell, C., Banon, N., Gascon, I., Merino, V., Bermejo, M.V. and Garrigues, T. (1997) Disposition and bioavailability of 6-fluoroquinolones derivatives. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 20, (suppl 1)67-68.
- Friis, C. (1993) Penetration of danofloxacin into the respiratory tract tissues and secretions in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 54, 1122-1127.
- Gandolf, A.R., Papich, M.G., Bringardner, A.B. and Atkinson, M.W. (2006) Single-dose intravenous and oral pharmacokinetics of enrofloxacin in goral (*Nemorhaedus goral arnouxianus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 37, (2)145-150.
- Gandolf, A.R., Papich, M.G., Bringardner, A.B. and Atkinson, M.W. (2005) Pharmacokinetics after intravenous, subcutaneous, and oral administration of enrofloxacin to alpacas. *American Journal of Veterinary Research*, 66, (5)767-771.
- Garcia Ovando, H., Gorla, N., Poloni, G., Trotti, N., Prieto, G. and Errecalde, C. (2000) Intravenous pharmacokinetics of ciprofloxacin in goats. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 15, (1)77-79.
- Garcia Ovando, H., Gorla, N., Luders, C., Poloni, G., Errecalde, C., Prieto, G.

- and Puelles, I. (1999) Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in chickens. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 22, (3)209-212.
- García Ovando, H., Lüders, C., Gorla, N., Errecalde, C. and Prieto, G. (1997) Intravenous pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in broiler chickens. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, 203-204.
- García, M.T., Pelaez, C., Giménez, M.J. and Aguilar, L. (2000) *In vitro* activity of genifloxacin vs five quinolones and two macrolides against 27 spanish isolates of *Legionella pneumophila*: influence of charcoal on susceptibility test results. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44, 2176-2178.
- García-Montijano, M., Waxman, S., Lucas, J.J., Luaces, I., Zalba, J., González, F., Andrés, M.I. and Rodríguez, C. (2006) The pharmacokinetic behaviour of marbofloxacin in Eurasian buzzards (*Buteo buteo*) after intraosseous administration. *Veterinary Journal*, 171, (3)551-555.
- García-Montijano, M., Waxman, S., Sanchez, C., Quetglas, J., San Andrés, M.I., González, F. and Rodríguez, C. (2001) The disposition of marbofloxacin in Eurasian buzzards (*Buteo buteo*) after intravenous administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 24, (2)155-157.
- Garry, F., Weiser, M.G. and Belknap, E. (1994) Clinical pathology of llamas. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 10, (2)201-209.
- Garry, F. (1989) Clinical pathology of llamas. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 5, (1)55-70.
- Gavrielli, R., Yagil, R., Ziv, G., Creveld, C.V. and Glickman, A. (1995) Effect of water deprivation on the disposition kinetics of enrofloxacin in camels. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 18, (5)333-339.
- Ghezzi, M.D., Alzola, R.H., Lupidio, M.C., Massone, A., Castro, A.N. and Rodríguez, J.A. (2000) Conducto hepatopancreático de la llama (*Lama glama*). *Revista Chilena de Anatomía*, 18, (1).
- Giguere, S., Sweeney, R.W. and Belanger, M. (1996) Pharmacokinetics of enrofloxacin in adult horses and concentration of the drug in serum, body fluids, and endometrial tissues after repeated intragastrically administered doses. *American Journal of Veterinary Research*, 57, (7)1025-1030.
- Giles, C.J., Magonigle, R.A., Grimshaw, W.T., Tanner, A.C., Risk, J.E., Lynch, M.J. and Rice, J.R. (1991) Clinical pharmacokinetics of parenterally administered danofloxacin in cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 14, (4)400-410.
- Gips, M. and Soback, S. (1999) Norfloxacin pharmacokinetics in lactating cows with sub-clinical and clinical mastitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 22, (3)202-208.
- Gips, M. and Soback, S. (1996) Norfloxacin nicotinate pharmacokinetics in unweaned and weaned calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 19, (2)130-134.
- Golet, E.M., Xifra, I., Siegrist, H., Alder, A.C. and Giger, W. (2003)

- Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil. *Environmental Science & Technology*, 37, (15)3243-3249.
- González, F., Rodríguez, C., De Lucas, J.J., Waxman, S., San Andrés, M.D., Serres, C., Nieto, J. and San Andrés, M.I. (2007) Pharmacokinetics of a single intravenous dose of marbofloxacin in adult donkeys. *The Veterinary Record*, 161, (4)133-136.
- González, F., San Andrés, M.I., Nieto, J., San Andrés, M.D., Waxman, S., Vicente, M.L., Lucas, J.J. and Rodríguez, C. (2001) Influence of ruminal distribution on norfloxacin pharmacokinetics in adult sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 24, (4)241-245.
- González, F., Rodríguez, C., Nieto, J., Vicente, M.L., San Andrés, M.D. and San Andrés, M.I. (1997) Age related differences in norfloxacin pharmacokinetic behaviour following intravenous and oral administration in sheep. *The Veterinary Quarterly*, 19, 145-150.
- Gootz, T.D., McGuirk, P.R., Moynihan, M.S. and Haskell, S.L. (1994) Placement of alkyl substituents on the C/piperazine ring of fluoroquinolones: Dramatic differential effects on mammalian topoisomerase II and DNA gyrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38, 130-133.
- Gorla, N., Garcia Ovando, H. and Larripa, I. (1999) Chromosomal aberrations in human lymphocytes exposed in vitro to enrofloxacin and ciprofloxacin. *Toxicology Letters*, 104, 43-48.
- Goudah, A. and Hasabelnaby, S. (2010) Pharmacokinetics, plasma protein binding and bioavailability of moxifloxacin in Muscovy ducks after different routes of administration. *Research in Veterinary Science*, 88, (3)507-511.
- Goudah, A. and Mouneir, S.M. (2008) Comparative pharmacokinetics of difloxacin in goats kids and lambs. *Small Ruminant Research*, 78, 186-192.
- Goudah, A., Abd El-Aty, A.M., Regmi, N.L., Shin, H.C., Shimoda, M. and Shim, J.H. (2007) Single-dose pharmacokinetics of marbofloxacin in Egyptian buffalo (*Bubalus bubalis L.*) steers. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 120, (5-6)215-220.
- Greko, C., Finn, M., Franklin, A. and Bengtsson, B. (2003) Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship of danofloxacin against *Mannheimia haemolytica* in a tissue-cage model in calves. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52, (2)253-257.
- Grobbel, M., Lubke-Becker, A., Wieler, L.H., Froyman, R., Friederichs, S. and Filios, S. (2007) Comparative quantification of the *in vitro* activity of veterinary fluoroquinolones. *Veterinary Microbiology*, 124, (1-2)73-81.
- Gruet, P., Richard, P., Thomas, E. and Autefage, A. (1997) Prevention of surgical infections in dogs with a single intravenous injection of marbofloxacin: an experimental model. *The Veterinary Record*, 140, (8)199-202.
- Gutierrez-Zufiaurre, N. (2004) Relación entre estructura, actividad y efectos adversos de las quinolonas. *Revista Española de Quimioterapia*, volumen 17, (3)232-243.
- Haines, G.R., Brown, M.P., Gronwall, R.R. and Merritt, K.A. (2000) Serum concentrations and pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intragastric administration to mares.

- Canadian Journal of Veterinary Research*, 64, (3)171-177.
- Hamann, J., Schmidt, H. and Heesch, W. (1997) Concentrations of danofloxacin in milk of cows, milk yield and cell count after repeated intramuscular injection. *Tierärztliche Umschau*, 52, 705-706.
- Hardy, D., Amsterdam, D., Mandell, L.A. and Rotstein, C. (2000) Comparative in vitro activities of ciprofloxacin, gemifloxacin, grepafloxacin, moxifloxacin, ofloxacin, sparfloxacin, trovafloxacin, and other antimicrobial agents against bloodstream isolates of gram-positive cocci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44, (3)802-805.
- Haritova, A.M., Rusenova, N.V., Parvanov, P.R., Lashev, L.D. and Fink-Gremmels, J. (2006) Integration of pharmacokinetic and pharmacodynamic indices of marbofloxacin in turkeys. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50, (11)3779-3785.
- Haritova, A., Djeneva, H., Lashev, L., Soritrova, P., Gyrov, B. and Stefanova, M. (2004) Pharmacokinetics and PK/PD modelling of enrofloxacin in *Meleagris gallipavo* and *gallus domesticus*. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 7, (3)139-148.
- Haritova, A., Lashev, L. and Pashov, D. (2003) Pharmacokinetics of enrofloxacin in lactating sheep. *Research in Veterinary Science*, 74, (3)241-245.
- Harrenstien, L., Tell, L., Vulliet, R., Needham, M., Brandt, C.M., Brondos, B., Stedman, B. and Kass, P.H. (2000) Disposition of enrofloxacin in red-tailed hawks (*Bufo jamaicensis*) and Great Horned Owl (*Bubo virginianus*) after a single dose oral, intramuscular, or intravenous dose. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 14, (4)228-236.
- Harrison, T.M., Dubielzig, R.R., Harrison, T.R. and McClean, M. (2006) Enrofloxacin-induced retinopathy in a guanaco (*Lama guanicoe*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 37, (4)545-548.
- Harron, D.W.G., Nation, G., Tinson, A.H., Dhanasekharan, S. and Sheen, R. (1997) Effects of administration routes and dose on the pharmacokinetics of enrofloxacin in young and mature camels. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (suppl 1)54-55.
- Hassouan, M.K. (2006) Desarrollo de nueva metodología analítica para la determinación de quinolonas en alimentos de origen animal. Tesis. Departamento de química analítica. Universidad de Granada.
- Hawkey, C.M. and Gulland, F.M. (1988) Haematology of clinically normal and abnormal captive llamas and guanaco. *The Veterinary Record*, 122, (10)232-234.
- Hawkins, E.C., Boothe, M.D., Guinn, A., Aucoin, D.P. and Ngyuen, J. (1998) Concentration of enrofloxacin and its active metabolite in alveolar macrophages and pulmonary epithelial lining fluid of dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 21, 18-23.
- Heinen, E. (2002) Comparative serum pharmacokinetics of the fluoroquinolones enrofloxacin, difloxacin, marbofloxacin, and orbifloxacin in dogs after single oral administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 25, (1)1-5.
- Helmick, K.E., Boothe, D.M. and Jensen, J.M. (1997) Disposition of

- single-dose intravenously administered enrofloxacin in emus (*Dromaius novaehollandiae*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 28, (1)43-48.
- Hooper, D.C. (1998) Mechanisms of quinolone resistance. Use of quinolones in Food and Potential Impact on Human Health. *Report and Proceedings of a WHO Meeting*,
- Hooper, D.C. and Wolfson, J.S. (1993) Mechanisms of bacterial resistance to quinolones. *Quinolone Antimicrobial Agents*, (2ª edición), 97-118.
- Ichikawa, N., Naora, K. and Iwamoto, K. (1994) Comparative study of permeability into rat cerebrospinal fluid of the quinolones: dependency on their lipophilicities. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 17, (1)152-155.
- Idowu, O.R., Peggins, J.O., Cullison, R. and Bredow, J.V. (2010) Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in lactating dairy cows and beef steers following intravenous administration of enrofloxacin. *Research in Veterinary Science*, 89(2):230-5
- Idowu, O.R. and Peggins, J.O. (2004) Simple, rapid determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in bovine milk and plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 35, (1)143-153.
- Ihrke, P.J., Papich, M.G. and Demanuelle, T.C. (1999) The use of fluoroquinolones in veterinary dermatology. *Veterinary Dermatology*, 10, 193-204.
- Ingerman, M.J., Pitsakis, P.G., Rosenberg, A.F. and Levison, M.E. (1986) The importance of pharmacodynamics in determining the dosing interval in therapy for experimental pseudomonas endocarditis in the rat. *The Journal of Infectious Diseases*, 153, (4)707-714.
- Intorre, L., Vanni, M., Di Bello, D., Pretti, C., Meucci, V., Tognetti, R., Soldani, G., Cardini, G. and Jousson, O. (2007) Antimicrobial susceptibility and mechanism of resistance to fluoroquinolones in *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus schleiferi*. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30, (5)464-469.
- Intorre, L., Mengozzi, G., Bertini, S., Bagliacca, M., Luchetti, E. and Soldani, G. (1997) The plasma kinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in the Muscovy duck. *Veterinary Research Communications*, 21, (2)127-136.
- Ismail, M. and El-Kattan, Y.A. (2007) Comparative pharmacokinetics of marbofloxacin in healthy and *Mannheimia haemolytica* infected calves. *Research in Veterinary Science*, 82, (3)398-404.
- Iturbe, J., Martínez Larrañaga, M.R. and Anadón, A. (1997) Bioavailability and residues of ciprofloxacin in broiler chickens. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (suppl 1)296.
- Izumi, T. and Kitagawa, T. (1989) Protein binding of quinolone carboxylic acids. I. Cinoxacin, nalidixic acid and pipemidic acid. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37, 742-745.
- Jha, K., Roy, B.K. and Singh, R.C. (1996) The effect of induced fever on the biokinetics of norfloxacin and its interaction with probenecid in goats. *Veterinary Research Communications*, 20, (5)473-479.

- Jordan, F.T., Horrocks, B.K. and Froyman, R. (1993) A model for testing the efficacy of enrofloxacin (Baytril) administered to turkey hens in the control of *Mycoplasma iowae* infection in eggs and embryos. *Avian Diseases*, 37, (4)1057-1061.
- Kaartinen, L., Panu, S. and Pyorala, S. (1997a) Pharmacokinetics of enrofloxacin in horses after single intravenous and intramuscular administration. *Equine Veterinary Journal*, 29, (5)378-381.
- Kaartinen, L., Pyorala, S., Moilanen, M. and Raisanen, S. (1997b) Pharmacokinetics of enrofloxacin in newborn and one-week-old calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (6)479-482.
- Kaartinen, L., Salonen, M., Alli, L. and Pyorala, S. (1995) Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous, intramuscular and subcutaneous injections in lactating cows. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 18, (5)357-362.
- Keck, G. and Borne, P.M. (1995) Nouvelles conceptions en antibiothérapie et leurs applications pratiques en médecine vétérinaire. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 146, 309-320.
- Kesteman, A.S., Ferran, A.A., Perrin-Guyomard, A., Laurentie, M., Sanders, P., Toutain, P.L. and Bousquet-Melou, A. (2009) Influence of inoculum size and marbofloxacin plasma exposure on the amplification of resistant subpopulations of *Klebsiella pneumoniae* in a rat lung infection model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, (11)4740-4748.
- Kinabo, L.D. and McKellar, Q.A. (1989) Current models in pharmacokinetics: applications in veterinary pharmacology. *Veterinary Research Communications*, 13, (2)141-157.
- Knoll, U., Glunder, G. and Kietzmann, M. (1999) Comparative study of the plasma pharmacokinetics and tissue concentrations of danofloxacin and enrofloxacin in broiler chickens. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 22, (4)239-246.
- Kreil, V., Otero, P., Ambros, I., Waxman-Dova, S., Montoya, L., Albarells, G., Rebuelto, M. and Hallu, R. (2001) Pharmacokinetics of enrofloxacin in llamas (*Lama glama*). *Investigación Veterinaria*, 3, (1)55-61.
- Kung, K., Riond, J.L. and Wanner, M. (1993) Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and oral administration of enrofloxacin in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 16, (4)462-468.
- Lackey, M.N., Belknap, E.B., Salman, M.D., Tinguely, L. and Johnson, L.W. (1995) Urinary indices in llamas fed different diets. *American Journal of Veterinary Research*, 56, (7)859-865.
- Langston, V.C., Sedrish, S. and Boothe, D.M. (1996) Disposition of single-dose oral enrofloxacin in the horse. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 19, (4)316-319.
- Laraje, R., Talmi, A., Bounaga, R., Bengoumi, M., El Hraiki, A. and Laurentie, M. (2006) Comparative pharmacokinetics of marbofloxacin after a single intramuscular administration at two dosages to camels (*Camelus dromedarius*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29, (3)229-231.
- Lassen, E.D., Pearson, E.G., Long, P., Schmotzer, W.B., Kaneps, A.J. and

- Riebold, T.W. (1986) Clinical biochemical values of llamas: reference values. *American Journal of Veterinary Research*, 47, (10)2278-2280.
- Lathers, C.M. (2002) Clinical pharmacology of antimicrobial use in humans and animals. *Journal of Clinical Pharmacology*, 42, 587-600.
- Lavy, E., Ziv, G. and Glickman, A. (1995) Intravenous disposition kinetics, oral and intramuscular bioavailability and urinary excretion of norfloxacin nicotinate in donkeys. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 18, (2)101-107.
- Lecoeur Bitchatchi, S. and Kolf Clauw, M. (1998) Les nouvelles quinolones en médecine vétérinaire. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 175, 7-15.
- Lees, P. and Aliabadi, F.S. (2002) Antimicrobianos que inhiben la función de los ácidos nucleicos. En Botana, L.M., director. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. 1ª ed. España: McGraw-Hill/Interamericana. 484-492.
- Lefebvre, H.P., Schneider, M., Woehrlé, F. and Toutain, P.L. (2000) Haemodynamic effects of marbofloxacin in the anaesthetized dog. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 23, (suppl 1)L18.
- Lorenzutti, M.A. (2009) Farmacocinética de marbofloxacin en cabras: análisis microbiológico versus cromatográfico. Proyecto de investigación para optar a la obtención del DEA. Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. (Inédito)
- Malbe, M., Salonen, M., Fang, W., Oopik, T., Jalakas, M., Klaassen, M. and Sandholm, M. (1996) Disposition of enrofloxacin (Baytril) into the udder after intravenous and intra-arterial injections into dairy cows. *Zentralblatt für Veterinärmedizin.Reihe A*, 43, (6)377-386.
- Mann, D.D. and Frame, G.M. (1992) Pharmacokinetic study of danofloxacin in cattle and swine. *American Journal of Veterinary Research*, 53, (6)1022-1026.
- Marangos, M.N., Zhu, Z., Nicolau, D.P., Klepser, M.E. and Nightingale, C.H. (1997) Disposition of ofloxacin in female New Zealand white rabbits. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (1)17-20.
- Marbofloxacin Reference Book. (1999). Laboratorios Vetoquinol. Lure, France
- Marin Carrillo, P. (2008) Aplicación de fluoroquinolonas en medicina veterinaria: criterios farmacocinéticos y farmacocinéticos/farmacodinámicos(PK/PD). Tesis. Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia.
- Marin, P., Fernandez-Varon, E., Escudero, E. and Carceles, C.M. (2007) Pharmacokinetics after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration of difloxacin in sheep. *Research in Veterinary Science*, 83, (2)234-238.
- Martín Espada, C., Pinto Jimenez, C.E. and Cid Vazquez, M.D. (2010) Camélidos Sudamericanos: estado sanitario de sus crías. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 4, (1)37-50.
- Martínez, M.N. (1994) Generic drug appeal criteria: the 1990 bioequivalence guidelines. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 17, 88-91.
- Martínez, M., McDermott, P. and Walker, R. (2006) Pharmacology of the fluoroquinolones: a perspective for the

- use in domestic animals. *Veterinary Journal*, 172, (1)10-28.
- McKellar, Q.A. y Boggio, J.C. (2007) Relación farmacocinética/farmacodinámica de fármacos antimicrobianos utilizados en medicina veterinaria en *Antimicrobianos y antiparasitarios en medicina veterinaria*. Ed. Intermédica. Buenos Aires. 25-32.
- McKellar, Q.A., Sanchez Bruni, S.F., Jones, D.G. (2004) Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27, 503-514.
- McKellar, Q.A., Gibson, I., Monteiro, A. and Bregante, M. (1999) Pharmacokinetics of enrofloxacin and danofloxacin in plasma, inflammatory exudate, and bronchial secretions of calves following subcutaneous administration. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43, (8)1988-1992.
- McKellar, Q.A. (1996) Clinical relevance of the pharmacologic properties of fluoroquinolones. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 18, (2)14-21.
- Mediavilla, A., Flórez, J., García-Lobo, J.M. (1997) Farmacología de las enfermedades infecciosas: principios generales, selección y asociaciones de antibióticos. En Florez J, director. *Farmacología Humana*, (3ª edición), Barcelona: Masson: p1061-1083.
- Mengozi, G., Intorre, L., Bertini, S. and Soldani, G. (1996) Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and intramuscular administrations in sheep. *American Journal of Veterinary Research*, 57, (7)1040-1043.
- Mercado, E.C., Rodríguez, S.M., Elizondo, A.M., Marcoppido, G. and Parreno, V. (2004) Isolation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* from a South American camelid (*Lama guanicoe*) with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, (10)4809-4811.
- Meunier, D., Acar, J.F., Martel, J.L., Kroemer, S. and Valle, M. (2004) Seven years survey of susceptibility to marbofloxacin of bovine pathogenic strains from eight European countries. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 24, (3)268-278.
- Migliore, L., Cozzolino, S. and Fiori, M. (2003) Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants. *Chemosphere*, 52, (7)1233-1244.
- Mitscher, L.A., Zavod, R.M. and Sharma, P.N. (1989) Structure-activity relationships of the newer quinolone antibacterial agents. *International Tele-symposium on Quinolones*. 1st edición., 3-19.
- Monlouis, J.D., De Jong, A., Limet, A. and Richez, P. (1997) Plasma pharmacokinetics and urine concentrations of enrofloxacin after oral administration of enrofloxacin in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (suppl. 1)61-63.
- Mouton, J.W., Dudley, M.N., Cars, O., Derendorf, H., Drusano, G.L. (2005) Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55 (5):601-7.
- Mulrooney, D.M., Johnson, M.R., Smith, B.B. and Zimmerman, G.L. (1989) Clinical reference values for serum protein electrophoresis for the llama (*Lama glama*). *American Journal*

- of *Veterinary Research*, 50, (11)1889-1892.
- Muñoz, M.J., Lloveria, P., Santos, M.P., Abadia, A.R., Aramayona, J.J. and Bregante, M.A. (1996) Pharmacokinetics of ciprofloxacin in sheep after single intravenous or intramuscular administration. *The Veterinary Quarterly*, 18, (2)45-48.
- Nanduri, B., Lawrence, M.L., Peddinti, D.S. and Burgess, S.C. (2008) Effects of Subminimum Inhibitory Concentrations of Antibiotics on the *Pasteurella multocida* Proteome: A Systems Approach. *Comparative and Functional Genomics*, 254836.
- Neu, H.C. (1988) Quinolones: a new class of antimicrobial agents with wide potential uses. *The Medical Clinics of North America*, 72, (3)623-636.
- Neuman, M. (1988) Clinical Pharmacokinetics of the newer antibacterial 4-quinolones. *Clinical Pharmacokinetics*, 14, 96-121.
- Neuman, M. (1987a) Relationship between chemical structure of antibiotics and pharmacokinetics. *Drugs Experimental and Clinical Research*, XIII, (3)115-124.
- Neuman, M. (1987b) Relationships between chemical structure and adverse effects of antibacterial and antifungal agents. *Chemioterapia*, 6, (4)299-305.
- Nielsen, P. and Gyrd-Hansen, N. (1997) Bioavailability of enrofloxacin after oral administration to fed and fasted pigs. *Pharmacology & Toxicology*, 80, (5)246-250.
- Nouws, J.F., Mevius, D.J., Vree, T.B., Baars, A.M. and Laurensen, J. (1988) Pharmacokinetics, renal clearance and metabolism of ciprofloxacin following intravenous and oral administration to calves and pigs. *The Veterinary Quarterly*, 10, (3)156-163.
- Novotny, M.J. and Shaw, D.H. (1991) Effect of enrofloxacin on digoxin clearance and steady-state serum concentrations in dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 55, (2)113-116.
- Nowara, A., Jürgen, B. and Siteller, M. (1997) Binding of fluoroquinolone carboxylic acid derivatives to clay minerals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1459-1463.
- Okezaki, E., Teresaki, T., Nakamura, M., Nagata, O., Kato, H. and Tsuji, A. (1989) Serum protein binding of lomefloxacin, a new antimicrobial agent, and its related quinolones. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 78, 504-507.
- Olofsson, S.K., Marcusson L.L., Strömbäck A., Hughes, D., Cars, O. (2007). Dose-related selection of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60, 795–801.
- Olofsson, S.K., Marcusson L.L., Komp Lindgren P., Hughes, D., Cars, O. (2006). Selection of ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* in an in vitro kinetic model: relation between drug exposure and mutant prevention concentration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 57, 1116–1121
- Otero, J.L., Mestorino, N. and Errecalde, J.O. (2001a) Enrofloxacin: una fluoroquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte I: Química, mecanismo de acción, actividad antimicrobiana y resistencia bacteriana. *Analecta Veterinaria*, 21, (1)31-41.
- Otero, J.L., Mestorino, N. and Errecalde, J.O. (2001b) Enrofloxacin:

- una quinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte II: Farmacocinética y toxicidad. *Analecta Veterinaria*, 21, (1)42-49.
- Papich, M.G., Van Camp, S.D., Cole, J.A. and Whitacre, M.D. (2002) Pharmacokinetics and endometrial tissue concentrations of enrofloxacin and the metabolite ciprofloxacin after i.v. administration of enrofloxacin to mares. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 25, (5)343-350.
- Park, S.C., Yun, H.I. and Oh, T.K. (1997) Comparative pharmacokinetics of norfloxacin-glycine acetate in rabbits, horses, pigs and flounders after oral, intramuscular or intravenous administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (suppl 1)66-67.
- Park, S.C., Yun, H.I., Choi, Y.Y. and Oh, T.K. (1994) Pharmacokinetics of norfloxacin in horses and rabbits after intravenous, intramuscular or oral administration. *Proceedings of the 6th International Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology*. Edimburgo, 46-47.
- Pasquali, F. and Manfreda, G. (2007). Mutant prevention concentration of ciprofloxacin and enrofloxacin against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Veterinary Microbiology* 119, 304-310
- Percival, A. (1991) Impact of chemical structure on quinolone potency, spectrum and side effects. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 28, (suppl)1-8.
- Petracca, K., Riond, J.L., Graser, T. and Wanner, M. (1993a) Pharmacokinetics of the gyrase inhibitor marbofloxacin: influence of pregnancy and lactation in sows. *Zentralblatt für Veterinarmedizin. Reihe A*, 40, (1)73-79.
- Petracca, K. and Wanner, M. (1993b) The effect of pregnancy and lactation in sows on the pharmacokinetics of the gyrase inhibitor marbofloxacin. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 135, (10)298-304.
- Peyrou, M., Bousquet-Melou, A., Laroute, V., Vrins, A. and Doucet, M.Y. (2006) Enrofloxacin and marbofloxacin in horses: comparison of pharmacokinetic parameters, use of urinary and metabolite data to estimate first-pass effect and absorbed fraction. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29, (5)337-344.
- Phillips, I., King, A. and Shannon, K. (1988) *In vitro* properties of the Quinolones. *The Quinolones*, 83-117.
- Picco, E., Stiefel, S., Cerra, M., Michel, A., Rubio, M. and Formentini, E. (2009) Antibacterianos; certezas e hipótesis acerca de la relación Farmacocinética-farmacodinámica (PK/PD) de los mismos. *Panorama Actual del Medicamento*. 33- 994-1007
- Pijpers, A., Heinen, E., Jong, A. and Verheijden, J.H.M. (1997) Enrofloxacin pharmacokinetics after intravenous and intramuscular administration in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (suppl. 1)42-43.
- Pijpers, A., Vernooy, J.C.M., Cruijsem, A.L.M., Van Leengoed, L.A.M.G., Koeman, J., Hessels, A.H., Vandenhoeck, J. and Verheijden, J.H.M. (1994) Efficacy of parenteral treatment with oxitetracycline and enrofloxacin against *Actinobacillus pleuropneumoniae* in swine. *Proceedings of the*

- Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT)* 93.
- Pinto Jimenez, C.E., Martín Espada, C. and Cid Vazquez, M.D. (2010) Camélidos sudamericanos: clasificación, origen y características. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 4, (1)23-36.
- Prescott, J.F., y Yielding, K.M. (1990) In vitro susceptibility of selected veterinary pathogens to ciprofloxacin, enrofloxacin and norfloxacin. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 54, 195-197.
- Preston, S.L., Drusano, G.L., Berman, A.L., Fowler, C.L., Chow, A.T., Dornseif, B., Reichl, V., Natarajan, J. and Corrado, M. (1998) Pharmacodynamics of levofloxacin: a new paradigm for early clinical trials. *Journal of American Medical Association* 279, 125-129.
- Pyörälä, S. (1994) Local tissue damage in cows after intramuscular injections of eight antimicrobial agents. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 35, 107-110.
- Raggi Saini, L.A. and Crossley Cabezón, J.E. (1990) Características del proceso digestivo en camélidos sudamericanos. *Monografías de Medicina Veterinaria*, 12, (1)
- Rahal, A., Kumar, A., Ahmad, A.H., Malik, J.K. and Ahuja, V. (2006) Pharmacokinetics of enrofloxacin in sheep following intravenous and subcutaneous administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29, (4)321-324.
- Raina, R., Uppal, R.P., Kumar, V. and Garg, B.D. (2000) Pharmacokinetics and dosage of ciprofloxacin in buffalo calves. *Indian Journal of Animal Sciences*, 70, 475-477.
- Ramesh, S., Rao, G.S. and Malik, J.K. (2002) Pharmacokinetic disposition of subcutaneously administered enrofloxacin in goats. *Veterinary Research Communications*, 26, (7)563-569.
- Rao, G.S., Ramesh, S., Ahmad, H.C., Trpathi, L.D., Sharma, L.D. and Malik, J.K. (2002) Disposition kinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin following intravenous administration of enrofloxacin in goats. *Small Ruminant Research*, 44, 9-15.
- Rao, G.S., Ramesh, S., Ahmad, A.H., Tripathi, H.C., Sharma, L.D. and Malik, J.K. (2001) Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intramuscular administration of enrofloxacin in goats. *Veterinary Research Communications*, 25, (3)197-204.
- Regnier, A., Concordet, D., Schneider, M., Boisrame, B. and Toutain, P.L. (2003) Population pharmacokinetics of marbofloxacin in aqueous humor after intravenous administration in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 64, (7)889-893.
- Richez, P., Monlouis, J.D., Dellac, B. and Daube, G. (1997a) Validation of a therapeutic regimen for enrofloxacin in cats on the basis of pharmacokinetic data. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (suppl. 1)152-153.
- Richez, P., Pedersen Morner, A., De Jong, A. and Monlouis, J.D. (1997b) Plasma pharmacokinetics of parenterally administered danofloxacin and enrofloxacin in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (suppl 1)41-42.
- Richez, P., Dellac, B. and Froyman, R. (1994) Pharmacokinetics and bioavailability of enrofloxacin in pigs after

- single and repeated in feed medication with Baytril I.E.R. 2,5 %. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT)*.
- Riley, C.M., Kindberg, C.G. and Stella, V.J. (1989) The physicochemical properties of quinolone antimicrobials variously substituted at C-7. Implications in the development of liquid dosage forms. *International Telesymposium on Quinolones*, (1ª edición)21-36.
- Rothlin, R.P. (1999) Quinolonas, revisión histórica. *Medicina* (Buenos Aires), 59, (supl 1)3-7.
- Rougier, S., Vouldoukis, I., Fournel, S., Peres, S. and Woehrle, F. (2008) Efficacy of different treatment regimens of marbofloxacin in canine visceral leishmaniosis: a pilot study. *Veterinary Parasitology*, 153, (3-4)244-254.
- Ruiz-Serrano, M.J., Alcalá, L., Martínez, L., Díaz, M., Marin, M., González-Abad, M.J. and Bouza, E. (2000) *In vitro* activities of six fluoroquinolones against 250 clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* susceptible or resistant to first-line antituberculosis drugs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44, (9)2567-2568.
- San Andrés Larrea, M y Boggio, J.C. (2007) Introducción a los antimicrobianos en *Antimicrobianos y antiparasitarios en medicina Veterinaria*. Ed. Intermédica. Buenos Aires. 1-24
- Sanchez, M., Frutos, G. and Cuesta, P.L. (1996) Estadística y matemáticas aplicadas.
- Sanchez, C.R., Murray, S.Z., Isaza, R. and Papich, M.G. (2005) Pharmacokinetics of a single dose of enrofloxacin administered orally to captive Asian elephants (*Elephas maximus*). *American Journal of Veterinary Research*, 66, (11)1948-1953.
- Sappal, R., Chaudhary, R.K., Sandhu, H.S. and Sidhu, P.K. (2009) Pharmacokinetics, urinary excretion and plasma protein binding of danofloxacin following intravenous administration in buffalo calves (*Bubalus bubalis*). *Veterinary Research Communications*, 33, (7)659-667.
- Sarasola, P., Jernigan, A.D., Walker, D.K., Castledine, J., Smith, D.G. and Rowan, T.G. (2002) Pharmacokinetics of selamectin following intravenous, oral and topical administration in cats and dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 25, (4)265-272.
- Sasabe, H., Kato, Y., Terasaki, T., Tsuji, A. and Sugiyama, Y. (1999) Differences in the hepatobiliary transport of two quinolone antibiotics, grepafloxacin and lomefloxacin, in the rat. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 20, 151-158.
- Schneider, M., Valle, M., Woehrle, F. and Boisrame, B. (2004) Pharmacokinetics of marbofloxacin in lactating cows after repeated intramuscular administrations and pharmacodynamics against mastitis isolated strains. *Journal of Dairy Science*, 87, (1)202-211.
- Schneider, M., Woehrlé, F. and Boisramé, B. (2000) Pharmacokinetics of marbofloxacin in rabbits. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 23, ((suppl 1))B42.
- Schneider, M., Thomas, V., Boisrame, B. and Deleforge, J. (1996) Pharmacokinetics of marbofloxacin in

- dogs after oral and parenteral administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 19, (1)56-61.
- Schentag, J.J. (2000) Clinical pharmacology of the fluoroquinolones: studies in human dynamic/kinetic models. *Clinical Infectious Diseases* 31(Suppl. 2), S40-S44.
- Sepcic, K., Perkovic, O., Turel, I. and Sepcic, J. (2009) Adverse effects and interactions of fluoroquinolones. *Liječnicki Vjesnik*, 131, (3-4)74-80.
- Sharma, P.C., Jain, A. and Jain, S. (2009) Fluoroquinolone antibacterials: a review on chemistry, microbiology and therapeutic prospects. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 66, (6)587-604.
- Sharma, P.K., Ahmad, A.H., Sharma, L.D. and Varma, R. (2003) Pharmacokinetics of enrofloxacin and the rate of formation of its metabolite ciprofloxacin following intravenous and intramuscular single dose administration to male buffalo calves. *Veterinary Journal*, 166, (1)101-104.
- Shem-Tov, M., Rav-Hon, O., Ziv, G., Lavi, E., Glickman, A. and Saran, A. (1998) Pharmacokinetics and penetration of danofloxacin from the blood into the milk of cows. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 21, (3)209-213.
- Shem-Tov, M., Ziv, G., Glickman, A. and Saran, A. (1997a) Pharmacokinetics and penetration of marbofloxacin from blood into the milk of cows and ewes. *Zentralblatt für Veterinarmedizin. Reihe A*, 44, (9-10)511-519.
- Shem-Tov, M., Ziv, G., Glickman, A. and Saran, A. (1997b) Pharmacokinetics and penetration of danofloxacin from the blood into the milk of ewes. *Veterinary Research*, 28, (6)571-579.
- Shem-Tov, M. and Ziv, G. (1994) Clinical pharmacokinetic characterization of norfloxacin nicotinate in swine following systemic administration. *Zentralblatt für Veterinarmedizin. Reihe B*, 41, (1)60-70.
- Shlosberg, A., Ershov, E., Bellaiche, M., Hanji, V., Weisman, Y. and Soback, S. (1997) The inhibitory effects of the fluoroquinolone antimicrobials norfloxacin and enrofloxacin on hepatic microsomal cytochrome P-450 monooxygenases in broiler chickens. *Drug Metabolism and Drug Interactions*, 14, (2)109-122.
- Sidhu, P.K., Landoni, M.F., Aliabadi, F.S. and Lees, P. (2010) PK-PD integration and modeling of marbofloxacin in sheep. *Research in Veterinary Science*, 88, (1)134-141.
- Smith, J.T. and Lewin, C.S. (1988) Chemistry and mechanisms of action of the quinolone antibacterials. *The Quinolones* (1ª edición)23-82.
- Soback, S., Gips, M., Bialer, M. and Bor, A. (1994) Effect of lactation on single-dose pharmacokinetics of norfloxacin nicotinate in ewes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38, (10)2336-2339.
- Soliman, G.A. (2000) Tissue distribution and disposition kinetics of enrofloxacin in healthy and *E. coli* infected broilers. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 107, (1)23-27.
- Sörgel, F. and Kinzig, M. (1993) Pharmacokinetics of gyrase inhibitors. Part 2: renal and hepatic elimination pathways and drug interactions. *American Journal of Medicine*, 94, 56-59.

- Spreng, M., Deleforge, J., Thomas, V., Boisrame, B. and Drugeon, H. (1995) Antibacterial activity of marbofloxacin. A new fluoroquinolone for veterinary use against canine and feline isolates. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 18, (4)284-289.
- SPSS INC. (2007) SPSS Statistics 17.0 Command Syntax Reference. SPSS INC.
- Sumano, H. (1993) Quinolonas y fluoroquinolonas en medicina veterinaria. *Veterinaria Mexicana*, 24, 284-288.
- Tafur Garzón, M.A. (2000) Farmacocinética y residuos de marbofloxacin en pollos broiler. Tesis. Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid.
- Teng, R., Girard, D., Gootz, T.D., Foulds, G. and Liston, T.E. (1996) Pharmacokinetics of trovafloxacin (CP-99,219), a new quinolone, in rats, dogs and monkeys. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40, 561-566.
- Thomas, V.M., Gillardeau, L.D., Thomas, E.R. and Boisramé, B. (1997) Update on the sensitivity of recent european canine and feline pathogens to marbofloxacin. *The Veterinary Quarterly*, 19, (suppl 1)S52-S53.
- Thomas, V., Deleforge, J. and Boisramé, B. (1994a) Pharmacokinetics of marbofloxacin in preruminant and ruminant cattle. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology* (EAVPT), 60.
- Thomas, V., Deleforge, J. and Boisramé, B. (1994b) Pharmacokinetics of marbofloxacin in healthy and sick preruminant calves. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology* (EAVPT), 61.
- Tornquist, S.J. (2009) Clinical pathology of llamas and alpacas. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25, (2)311-322.
- Toutain, P.L. and Bousquet-Melou, A. (2004a) Volumes of distribution. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27, 441-453.
- Toutain, P.L. and Bousquet-Melou, A. (2004b) Plasma clearance. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27, 415-425.
- Toutain, P.L. and Bousquet-Melou, A. (2004c) Plasma terminal half-life. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27, 427-439.
- Toutain, P.L. and Lees, P. (2004) Integration and modeling of pharmacokinetic and pharmacodynamic data to optimize dosage regimens in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27, 467-477.
- Toutain, P.L., del Castillo, J.R., Bousquet-Melou, A. (2002) The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Research in Veterinary Science*, 73(2):105-114.
- Turnidge, J. (1999) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluoroquinolones. *Drugs*, 58, (suppl 2)29-36.
- Vancutsem, P.M. and Babish, J.G., (1996) *In vitro* and *in vivo* study of the effects of enrofloxacin on hepatic cytochrome P-450. Potential for drug interactions. *Veterinary & Human Toxicology*, 38, (4)254-259.

- Vancutsem, P.M., Babish, J.G. and Schwark, W.S. (1990) The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *The Cornell Veterinarian*, 80, (2)173-186.
- Vargas-Terán, M. (2005) Situación actual de los camélidos Sudamericanos en Perú. Proyecto de Cooperación Técnica a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina. (Prólogo) TCP/RLA/2914. FAO
- Varma, R., Ahmad, A.H., Sharma, L.D., Aggarwal, P. and Ahuja, V. (2003) Pharmacokinetics of enrofloxacin and its active metabolite ciprofloxacin in cows following single dose intravenous administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 26, (4)303-305.
- Verma, H.K., Pangawkar, G.R., Chaudhary, R.K. and Srivastava, A.K. (1999) Pharmacokinetics and dosage regimen of enrofloxacin in buffalo bulls after intramuscular administration. *Veterinary Research Communications*, 23, (8)501-505.
- Villa, R., Prandini, E., Caloni, F. and Carli, S. (1997) Serum protein binding of some sulphonamides, quinolones and fluoroquinolones in farm and domestic animals. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, (suppl 1)11S-28S.
- Vogelman, B. and Craig, W.A. (1986) Kinetics of antimicrobial activity. *The Journal of Pediatrics*, 108, (5 Pt 2)835-840.
- Volume 8. Notice to applicants and Guideline Veterinary medicinal products (2005). The rules governing medicinal products in the European Union. http://ec.europa.eu/health/documents/udrallex/vol-8/index_en.htm
- Vouldoukis, I., Rougier, S., Dugas, B., Pino, P., Mazier, D. and Woehrlé, F. (2006) Canine visceral leishmaniasis: comparison of in vitro leishmanicidal activity of marbofloxacin, meglumine antimoniate and sodium stibogluconate. *Veterinary parasitology*, 135, (2)137-146.
- Walker, R.D. and Dowling, P.M. (2006) en Fluoroquinolones. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Ed. Iowa State University Press, Ames. 263-284. R. D. Walker.
- Walker, R.D., Stein, G.E., Hauptman, J.G. and MacDonald, K.H. (1992) Pharmacokinetic evaluation of enrofloxacin administered orally to healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 53, (12)2315-2319.
- Walser, K., Gandorfer, B., Steinberger, A., Treitinger, E. and Winter, T. (1993) Studies on the antibacterial activity and pharmacokinetics of enrofloxacin (Baytril) in lactating cows. *Tierärztliche Umschau*, 48, 414-416.
- Watt, B. and Brown, F.V. (1986) Is ciprofloxacin active against clinically important anaerobes? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 17, (5)605-613.
- Waxman, S., San Andrés, M.D., González, F., San Andrés, M.I., De Lucas, J.J. and Rodríguez, C. (2004) Age-related changes in the pharmacokinetics of marbofloxacin after intravenous administration in goats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27, (1)31-35.
- Waxman, S., Rodríguez, C., González, F., De Vicente, M.L., San Andrés, M.I. and San Andrés, M.D. (2001)

- Pharmacokinetic behavior of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administrations in adult goats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 24, (6)375-378.
- Waxman, S., Rodríguez, C., González, F., de Vicente, M.L., Uriarte, I., San Andrés, M.I. and de Lucas, J.J. (2000) Pharmacokinetic behaviour of enrofloxacin in domestic ostriches (*Struthio camelus*). 8th International Congress of The European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 23, (Suppl. 1)36.
- Wheeler, J.C. (2006) Historia natural de la vicuña. *Investigación, Conservación y Manejo de las vicuñas*, 3, 208.
- Wetzstein, H.G. (2005). Comparative Mutant Prevention Concentrations of pradofloxacin and other veterinary fluoroquinolones indicate differing potentials in preventing selection of resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. Oct. p 4166-4173
- Whitehead, C.E. (2009) Neonatal diseases in llamas and alpacas. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25, (2)367-384.
- Wolfson, J.S. and Hooper, D.C. (1991) Overview of fluoroquinolone safety. *American Journal of Medicine*, 91, (6A)153S-161S.
- Wolfson, J.S. and Hooper, D.C. (1989) Introduction to DNA gyrase, quinolones and quinolone resistance. *International Telesymposium on Quinolones*, (1ª edición)137-156.
- Wright, D.H., Brown, G.H., Peterson, M.L., Rotschafer, J.C. (200) Application of fluoroquinolone pharmacodynamics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46(5), 669-683.
- Yoon, J.H., Broks, R.L., Khan, A., Pan, H., Bryan, J., Zhang, J., Budsberg, S.C., Mueller, P.O. AND Halper, J. (2004) The effect of enrofloxacin on cell proliferation and proteoglycans in horse tendon cells. *Cell Biology and Toxicology*, 20, 41-54.

