

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar al título de  
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

**Título: Determinación del comportamiento farmacocinético y de  
la disposición de residuos de enrofloxacin en ovinos**

Autor: OTERO, José Luis

Director: Dr. Jorge O. Errecalde  
Co-director: Dra. Nora Mestorino

Lugar de trabajo: Cátedra de Farmacología, Farmacotecnia y  
Terapéutica, Facultad de Ciencias Veterinarias.

Miembros del Jurado:

Titulares:

Dr. Jorge Cassals  
Dr. Eduardo Marotta  
Dr. Adrián Lifschitz

El Dr. Jorge O. Errecalde, Profesor Titular, y la Dra. Nora Mestorino, Profesora Adjunta, de la Cátedra de Farmacología, Farmacotecnia y Terapéutica de la Facultad de Ciencias Veterinarias, de la Universidad Nacional de La Plata.

## CERTIFICAN

Que el trabajo presentado por el Médico Veterinario José Luis Otero con el título "Determinación del comportamiento farmacocinético y de la disposición de residuos de enrofloxacin en ovinos" ha sido realizado bajo su dirección en las dependencias y laboratorios de esa Cátedra

La Plata, marzo de 2006

Dra. Nora Mestorino

Dr. Jorge O. Errecalde

Agradezco a Jorge y Nora por su labor de dirección. Han sido siempre afables, bondadosos y comprensivos, me han brindado toda su colaboración, y sus palabras de aliento fueron imprescindibles para superar las dificultades. Han sido tolerantes con mis limitaciones, y me permitieron trabajar con absoluta libertad e independencia, en un cálido ambiente humano.

A Jorge y Graciela, por su cariño y hospitalidad.

A todos los integrantes de la Cátedra de Farmacología, Farmacotecnia y Terapéutica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, especialmente a Jorgelina, Esteban, Jesús y Ramón, por su cálido y afectuoso acogimiento y por haber colaborado generosamente en todo momento. A ellos mismos y a todos los auxiliares y pasantes de Cátedra, por permitirme trabajar en un inmejorable ambiente de compañerismo, solidaridad, afecto y alegría.

A Esteban, por su hospitalidad, generosidad y bonhomía.

A los Decanos y Consejos Directivos, y otras autoridades de mi Facultad, por concederme todo el apoyo y la colaboración que necesité, y por permitirme trabajar libremente y sin apremios.

Un agradecimiento especial a la Dra. Eva Moreyra, por haber confiado siempre en mí, y hacer todo lo posible para que yo pudiera realizar mis estudios de posgrado.

A Liliana Contini, por su valiosa colaboración en el análisis estadístico.

A las autoridades de la Secretaría de Posgrado de la Facultad de Cs. Veterinarias de La Plata, especialmente a la Dra. Gabriela Chavez, por facilitarme todos los trámites pertinentes a la carrera de Doctorado.

A los doctores Miguel Angel Bregante y María Angeles García, por haberme recibido con tanta buena predisposición y cariño en Zaragoza, y por su valioso aporte a esta tesis.

El último y más grande agradecimiento a Liliana, por su infinita paciencia, solidaridad, apoyo y comprensión, sin quien no hubiese sido posible llevar adelante este desafío.

***A mis padres***

***A Liliana***

## Indice

<b>I. Títulos y resúmenes</b> .....	1
I.1. Título.....	1
I.2. Palabras claves.....	1
I.3. Resumen.....	1
I.4. Tittle.....	2
I.5. Key words.....	2
I.6. Summary.....	2
<b>II. Fundamentos y objetivos</b> .....	3
II.1. Fundamentos de la eleccion del tema.....	3
II.2. Hipótesis.....	5
II.3. Objetivos.....	5
<b>III. Revisión biliográfica</b> .....	6
III.1. Antimicrobianos.....	6
III.1.1. Mecanismos de acción.....	9
III.1.2. La correcta utilización de antimicrobianos en medicina veterinaria.....	11
III.2. El problema de los residuos de drogas de uso veterinario.....	13
III.2.1. Definiciones.....	14
III.2.2. Residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos.....	18
III.2.3. Residuos de antimicrobianos en los alimentos.....	19
III.2.4. Riesgos de la presencia de residuos de drogas antimicrobianas en los alimentos.....	20
III.2.5. Antimicrobianos de uso veterinario potencialmente peligrosos.....	25
III.2.6. Exposición a los residuos de antimicrobianos.....	26
III.2.7. Residuos de antimicrobianos en tejidos animales.....	28
III.2.8. Residuos de quinolonas en tejidos animales.....	28
III.2.9. Residuos de enrofloxacina en tejidos animales.....	30
III.2.10. Residuos de enrofloxacina en leche.....	31
III.2.11. Evaluación de la seguridad de los residuos de medicamentos.....	33
III.3. Historia, Clasificación y Estructura Química de las Quinolonas.....	34
III.3.1. Historia.....	34
III.3.2. Clasificación.....	37
III.3.3. Estructura química.....	39
III.3.3.1. Propiedades físico-químicas de la enrofloxacina.....	44
III.4. Mecanismo de acción de las quinolonas.....	47
III.5. Actividad antimicrobiana de las quinolonas.....	53
III.5.1. Espectro de actividad.....	55
III.6. Resistencia bacteriana a las quinolonas.....	66

III.7. Farmacocinética de las quinolonas.....	76
III.7.1. Absorción.....	77
III.7.1.1. Absorción oral.....	77
III.7.1.2. Absorción parenteral.....	80
III.7.2. Distribución.....	82
III.7.2.1. Distribución de la ciprofloxacina.....	85
III.7.2.2. Distribución de la norfloxacina.....	86
III.7.2.3. Distribución de la danofloxacina.....	88
III.7.2.4. Distribución de la enrofloxacina.....	89
III.7.2.5. Distribución de otras fluoroquinolonas.....	97
III.7.3. Metabolismo y excreción.....	98
III.7.3.1. Metabolismo.....	98
III.7.3.2. Excreción.....	101
III.7.4. Farmacocinética de las quinolonas en la enfermedad.....	103
III.7.5. Parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacina en distintas especies animales.....	104
III.8. Toxicidad e interacciones medicamentosas de las quinolonas.....	113
III.8.1. Toxicidad.....	113
III.8.2. Interacciones medicamentosas.....	115
<b>IV. Materiales y métodos.....</b>	<b>117</b>
IV.1. Materiales.....	117
IV.1.1. Animales.....	117
IV.1.2. Producto.....	117
IV.1.3. Reactivos.....	117
IV.1.4. Material fungible.....	117
IV.1.5. Instrumental.....	118
IV.1.6. Equipamiento informático.....	119
IV.2. Métodos.....	120
IV.2.1. Cinética plasmática.....	120
IV.2.1.1. Recepción y acondicionamiento de los animales.....	120
IV.2.1.2. Diseño experimental.....	120
IV.2.1.2.1. Administración de la droga y procedimiento de muestreo.....	121
IV.2.1.3. Metodología analítica.....	122
IV.2.1.3.1. Extracción de las drogas a partir del plasma.....	122
IV.2.1.3.2. Análisis cromatográfico.....	127
IV.2.1.3.3. Validación del método.....	128







V.7.2.8. Semivida de eliminación de la enrofloxacin.....	236
V.7.2.9. Aclaramiento plasmático de la enrofloxacin.....	238
V.7.3. Comparaciones entre parámetros farmacocinéticos correspondientes a las distintas vías de administración de la ciprofloxacina.....	239
V.7.3.1. Concentraciones plasmáticas máximas ( $C_{max}$ ) de la ciprofloxacina.....	239
V.7.3.2. Tiempo al que se alcanza la $C_{max}$ ( $T_{max}$ ) de la ciprofloxacina.....	239
V.7.3.3. Area bajo la curva de concentración de ciprofloxacina desde el tiempo cero al tiempo de la última determinación ( $ABC_{0-t}$ ) y a infinito ( $ABC_{0-\infty}$ ), luego de la administración de enrofloxacin por todas las vías.....	241
V.7.3.4. Constante de eliminación de la ciprofloxacina.....	243
V.7.3.5. Semivida de eliminación de la ciprofloxacina.....	243
V.7.4. Comparaciones entre parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin y su metabolito ciprofloxacina.....	245
V.7.4.1. Comparación entre constante de eliminación y semividas de eliminación.....	245
V.7.5. Comparaciones entre métodos de análisis farmacocinético para la enrofloxacin.....	248
<b>VI. Discusión.....</b>	<b>252</b>
VI.1. Del método analítico.....	252
VI.2. De la extracción de las drogas desde el plasma y los tejidos.....	256
VI.3. De las condiciones cromatográficas.....	258
VI.4. De los métodos de cálculo y del tipo de regresión usado.....	260
VI.5. De los parámetros farmacocinéticos.....	263
VI.5.1. Estudio intravenoso.....	263
VI.5.2. Estudio intramuscular.....	270
VI.5.3. Estudio subcutáneo.....	278
VI.5.4. Estudio oral.....	281
VI.5.5. Porcentaje del metabolito.....	282
VI.5.6. De las diferencias halladas entre los parámetros farmacocinéticos.....	283
VI.5.7. Diferencias entre los parámetros farmacocinéticos según las vías de administración.....	288
VI.5.7.1. Enrofloxacin.....	288
VI.5.7.2. Ciprofloxacina.....	290
VI.6. Del estudio en tejidos.....	292
VI.7. La importancia del análisis farmacocinético-farmacodinámico (PK/PD).....	294
VI.8. Crítica de las limitaciones de los modelos in vitro y propuestas para futuras investigaciones.....	304

VI.9. Conclusiones.....	309
<b>VII. Referencias bibliográficas.....</b>	<b>311</b>
<b>VIII. Anexo.....</b>	<b>347</b>
Figuras I y II.....	348
Figura III.....	349
Figura IV y V.....	350
Tabla I.....	351
Tabla II.....	359
Tabla III.....	360
Tabla IV.....	361
Tabla V y VI.....	362
Tabla VII.....	363
Tabla VIII.....	364
Tabla IX.....	365
Tabla X.....	366
Tabla XI.....	367
Tabla XII.....	368
Tabla XIII.....	369
Tabla XIV.....	370
Tabla XV.....	371
Tabla XVI.....	372
Tabla XVII.....	373
Tabla XVIII.....	374
Tabla XIX.....	375
Tabla XX.....	376
Tabla XXI.....	377
Tabla XXIII.....	378
Tabla XXIV.....	379
Tabla XXV.....	380
Tabla XXVI.....	381
Tabla XXVII.....	382
Tabla XXVIII.....	383
Tabla XXIX.....	384
Tabla XXX.....	385
Tabla XXXI.....	386
Tabla XXXII.....	387
Tabla XXXIII.....	389
Tabla XXXIV.....	390
Tabla XXXV.....	391
Tabla XXXVI.....	392
Tabla XXXVII.....	393
Tabla XXXVIII.....	394

Tabla XXXIX.....	395
Tabla XL.....	396
Tabla XLI.....	397
Tabla XLII.....	398
Tabla XLIII.....	400
Tabla XLIV.....	401
Tabla XLV.....	402
Tabla XLVI.....	403
Tabla XLVII.....	404
Tabla XLVIII.....	405
Tabla XLIX.....	406
Tabla L.....	407
Tabla LI.....	408
Tabla LII.....	409
Tabla LIII.....	410
Tabla LIV.....	412
Tabla LV.....	413
Tablas LVI, LVII, LVIII y LIX.....	414
Tabla LX.....	416
Tablas LXIa y LXIb.....	417
Tabla LXII.....	418
Tabla LXIII.....	419
Tabla LXIV.....	420
Tablas LXV y LXVI.....	421
Tabla LXVII.....	422
Tablas LXVIII, LXIX y LXX.....	423
Tablas LXXI, LXXII, LXXIII y LXXIV.....	424
Tablas LXXV y LXXVI.....	425
Tablas LXXVII y LXXVIII.....	426
Tabla LXXIX.....	427
Tablas LXXX, LXXXI y LXXXII.....	428
Tablas LXXXIII y LXXXIV.....	429
Tablas LXXXV y LXXXVI.....	430
Tablas LXXXVII, LXXXVIII y LXXXIX.....	431
Tablas XC, XCI y XCII.....	432
Tabla XCIII.....	433
Tablas XCIV, XCV y XCVI.....	434
Tablas XCVII, XCVIII y XCIX.....	435
Tablas C, CI y CII.....	436
Tablas CIII, CIV y CV.....	437
Tablas CVI, CVII y CVIII.....	438
Tablas CIX, CX y CXI.....	439

**Abreviaturas y símbolos**

$\alpha$	Constantes de distribución lenta
$ABC_{0-\infty}$	Área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo extrapolada a infinito
$ABC_{0-t}$	Área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo a tiempo $t$
ABCI	Área bajo la curva inhibitoria
$ABCM_{0-\infty}$	Área bajo la curva en el primer momento extrapolada a infinito
$ABCM_{0-t}$	Área bajo la curva en el primer momento a tiempo $t$
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AIC	Criterio de información de Akaike
ARN	Ácido ribonucleico
ATCC	American Type Culture Collection
CIM	Concentración inhibitoria mínima
Cl	Aclaramiento corporal
$Cl_2$	Aclaramiento desde el compartimiento periférico superficial
$Cl_3$	Aclaramiento desde el compartimiento periférico profundo
$C_{max}$	Concentración plasmática máxima
CNP	Curvas de nivel plasmático
$\beta$	Constante de eliminación
$\pi$	Constantes de distribución rápida
$C_p$	Concentración de la droga a cualquier tiempo
EFS	Extracción en fase sólida
EPA	Efecto post-antibiótico
F	Biodisponibilidad
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
HPLC-RP	Cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa
I.M.	Intramuscular
I.V.	Intravenosa
IDA	Ingesta diaria admisible
$k_{10}$	Constante de eliminación del compartimiento central
$k_{10}$	Constante de primer orden para la transferencia entre el compartimiento periférico profundo y el compartimiento central
$k_{12}$	Constante de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y el compartimiento periférico superficial

$k_{13}$	Constante de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y el compartimiento periférico profundo
$k_{21}$	Constante de primer orden para la transferencia entre el compartimiento periférico superficial y el compartimiento central
$K_a$	Constante de absorción
$K_{el}$	Constante de desaparición de la droga desde el compartimiento central
LMR	Límite máximo de residuos
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible a meticilina
ND	Niveles no detectables
NMEL	Dosis sin efecto microbiológico
NSEAO	Nivel sin efectos adversos observables
PD	Farmacodinamia
PK	Farmacocinética
PPB	Parte por billón
PPC	Parte por cuatrillón
PPM	Parte por millón
PPT	Parte por trillón
RMV	Residuos de medicamentos veterinarios
S.C.	Subcutánea
$t_{1/2\pi}$	Semivida de distribución lenta
$t_{1/2\alpha}$	Semivida de distribución rápida
$t_{1/2\beta}$	Semivida de eliminación
TMA	Tiempo medio de absorción
$T_{max}$	Tiempo en que se alcanza la máxima concentración plasmática
TMR	Tiempo medio de residencia
$V_c$	Volumen aparente del compartimiento central
$V_{ee}$	Volumen aparente de distribución en estado estacionario
$V_{p2}$	Volumen aparente del compartimiento periférico superficial
$V_{p3}$	Volumen aparente del compartimiento periférico profundo

## I. Títulos y resúmenes

## I. Títulos y resúmenes

I.1. Título: **Determinación del comportamiento farmacocinético y de la disposición de residuos de enrofloxacin en ovinos**

I.2. Palabras claves: **enrofloxacin \* ovinos \* farmacocinética \* residuos \* tejidos**

I.3. Resumen:

Se realizó un estudio de la disposición de la enrofloxacin y su metabolito, la ciprofloxacina, en la especie ovina, luego de la administración de enrofloxacin por las vías intravenosa, intramuscular, subcutánea y oral.

Se utilizaron ocho animales de la especie ovina, en un diseño experimental del tipo cuadrado latino 4x4 en que cada bloque corresponde a dos animales, para el análisis farmacocinético a partir de plasma, obtenido luego de la administración de la droga por las cuatro vías. Para el estudio en tejidos se utilizaron 14 animales. La dosis administrada, en todos los experimentos, fue de 2,5 mg/kg.

Ambas drogas, enrofloxacin y ciprofloxacina, se cuantificaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa.

Para el análisis farmacocinético se utilizó un modelo no compartimental, basado en la teoría de los momentos estadísticos, y modelos compartimentales. Para el método no compartimental se utilizaron fórmulas clásicas, y para los modelos no compartimentales se emplearon programas informáticos de análisis por regresión lineal y no lineal.

La disposición de la enrofloxacin luego de su administración intravenosa fue descrita por un modelo abierto de tres compartimientos, con eliminación desde el compartimiento central. Un modelo bicompartimental abierto con absorción de primer orden describió mejor el comportamiento de la enrofloxacin administrada tanto por vía intramuscular como subcutánea. La disposición de la droga luego de la administración oral no pudo ser descrita por modelos compartimentales.

La droga se caracterizó por una rápida absorción, una rápida y muy buena distribución a los tejidos, y semividas de eliminación relativamente prolongadas.

Las concentraciones plasmáticas máximas, y los parámetros farmacocinéticos-farmacodinámicos (PK/PD) que podemos analizar a partir de ellos, demuestran la eficacia de la enrofloxacin frente a los microorganismos patógenos más comunes de la especie ovina.

Sin embargo, la absorción por vía oral, a la dosis utilizada, fue deficiente en los ovinos, y no permitiría alcanzar niveles terapéuticos de la droga.

Las concentraciones alcanzadas en tejidos fueron superiores a las del plasma, y a niveles terapéuticos para la mayoría de los microorganismos patógenos. La enrofloxacin y su metabolito cayeron por debajo del límite máximo de residuos a las 48 horas.

El comportamiento farmacocinético y la rápida desaparición de la enrofloxacin y de su metabolito desde los tejidos, muestran que la enrofloxacin es una alternativa válida para el tratamiento de infecciones producidas por los patógenos más comunes de los ovinos.

**1.4. Title: Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous, intramuscular, subcutaneous and oral administration in sheep**

**1.5. Key words: enrofloxacin \* sheep \* pharmacokinetics \* residues \* tissues**

**1.6. Summary**

A study of the disposition of both enrofloxacin and its metabolite, ciprofloxacin, following intravenous, intramuscular, subcutaneous and oral administration of enrofloxacin in sheep was made.

Eight sheep, in a 4x4 latin square design (in which each block corresponds to 2 animals), were used in the distribution of treatments to perform a plasma pharmacokinetic analyses after administration through the four routes. Fourteen animals were used in the tissue study.

Both enrofloxacin and ciprofloxacin were determined by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC).

Compartmental and non-compartmental models were used in the pharmacokinetic analyses, using the classical formulae, and computer programs.

The disposition of enrofloxacin after intravenous administration was best described by a tricompartamental open model, with elimination from the central compartment, while the intramuscular and subcutaneous administration data better fitted a two-compartment open model. Enrofloxacin disposition following oral administration could not be described by compartmental models.

Enrofloxacin is characterized by a rapid absorption, fast and extensive tissue distribution, and relatively long half-lives.

Maximal plasma concentrations, and pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK/PD) parameters calculated, shown enrofloxacin efficacy against main pathogen microorganisms in sheep.

Nevertheless, oral absorption at the administered dose, was not enough to reach drug therapeutic levels.

Enrofloxacin reached higher tissue than plasma concentrations, at therapeutic levels for most of pathogen microorganisms. Enrofloxacin and their metabolite fell below the maximum residue limit in 48 hours.

The pharmacokinetic features and the fast tissue depletion of the main drug and its metabolite allow enrofloxacin to be a valid alternative for treating infections produced by most of pathogen microorganisms in sheep.



## II. Fundamentos y Objetivos

## **II. Fundamentos y objetivos**

### **II.1. Fundamentos de la elección del tema**

Nuestro país es un gran productor y exportador de alimentos de origen pecuario. Las exportaciones de alimentos de origen animal, carne y leche, son una de las principales fuentes de divisas. Es razonable, por lo tanto, considerar el impacto negativo que puedan tener las enfermedades infecciosas en los rodeos productores de esos alimentos.

La terapéutica de las enfermedades infecciosas de los rodeos ha tenido un inmenso desarrollo en el siglo pasado y en lo que va del presente. Gran parte de ese desarrollo se debió a la síntesis de nuevas moléculas de fármacos antimicrobianos, que permitieron hacer tratamientos más eficaces y a un más amplio espectro de microorganismos. Al mismo tiempo, se comenzó a utilizar antimicrobianos para promover el crecimiento de los animales, a fin de hacer más eficiente la producción de proteína.

Sin embargo, en forma paralela al enorme crecimiento del mercado de los antimicrobianos y de la utilización masiva de estas drogas, han surgido problemas que afectan a la misma terapéutica veterinaria, y a la salud del consumidor.

Uno de los problemas más acuciantes es la aparición de resistencia a los antimicrobianos en los agentes patógenos. Este fenómeno se debe principalmente a un factor: La utilización errónea o imprudente de los antimicrobianos. Otro de los problemas, que no podemos, de ningún modo, desvincular del primero, está representado por la presencia de residuos de los mismos en los alimentos que provienen de animales tratados.

Para combatir la aparición y diseminación de resistencia a los antimicrobianos es necesario hacer un uso criterioso de estas drogas, basado en información farmacológica y microbiológica, utilizando los antimicrobianos solamente cuando estos son imprescindibles, a las dosis, intervalos inter-dosis y duración del tratamiento adecuados. El control de la presencia de residuos en concentraciones por encima de los límites permitidos, por otra parte, también contribuirá al control de la emergencia de resistencias, además de evitar la aparición de efectos alérgicos o toxicológicos en los consumidores.

Ante este problema nos hemos planteado la realización de un trabajo que pueda contribuir a la efficientización del uso de una droga antimicrobiana, de gran difusión en medicina veterinaria, en una especie animal en la cual todavía no se emplea con regularidad, y determinar la presencia de residuos en sus carnes en niveles peligrosos.

Par cumplir con este objetivo general, llevaremos adelante ensayos que nos permitan conocer las características farmacocinéticas de la enrofloxacin, tanto en plasma como en tejidos ovinos, y estimar la presencia de residuos.

Los ensayos de farmacocinética habitualmente no consideran el posible comportamiento del antimicrobiano frente al agente patógeno, y los estudios de residuos se han basado mayormente en determinaciones de concentraciones del principio activo y/o sus metabolitos en tejidos a diferentes tiempos, lo que permite solamente una interpretación estática del problema.

Por eso, trataremos de integrar los datos del estudio de la disposición de la enrofloxacin en ovinos con datos microbiológicos, a fin estimar la eficacia antimicrobiana, y ajustar esquemas de dosificación.

Por otra parte, consideramos que la aplicación de metodologías farmacocinéticas modernas a los estudios residuales representa, probablemente, la forma de dinamizar esos estudios, a través de la utilización de cifras de depuración, semividas, constantes de intercambio intercompartmental, etc. De esta manera, un estudio residual se transformaría en un estudio de cinética de residuos, lo que enriquecería enormemente los resultados, permitiendo la extracción de conclusiones más valiosas a partir de un más rico conjunto de datos.

Creemos que a través de este tipo de estudios, el veterinario especialista dejaría de aplicar fórmulas rígidas, para pasar a comprender el proceso y aplicar su criterio para la aplicación racional de los tratamientos antimicrobianos, y la solución de los problemas de residuos que afectan a la salud pública.

## II.2. Hipótesis:

- La enrofloxacin se absorbe bien por vía oral y parenteral;
- La enrofloxacin se distribuye rápida y profundamente a los tejidos
- La enrofloxacin tienen una semivida de eliminación prolongada
- La tasa de formación de ciprofloxacina es menor que la vida media de absorción de enrofloxacin.
- -La ciprofloxacina tiene un volumen de distribución mayor que la enrofloxacin en ovinos.
- -La vida media de eliminación de ciprofloxacina es más prolongada que la de enrofloxacin.
- La disposición de la enrofloxacin en ovinos permite tratamientos eficaces y convenientes para la mayoría de las enfermedades infecciosas de esta especie.
- -Los niveles residuales de enrofloxacin y ciprofloxacina representan un riesgo para la salud pública.

## II.3. Objetivos:

- Validar y estandarizar una técnica cromatográfica para la detección de enrofloxacin y ciprofloxacina en plasma y tejidos ovinos.
- Determinar los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacin y ciprofloxacina luego de su administración por la vía intravenosa, intramuscular, subcutánea y oral.
- Determinar los parámetros farmacocinéticos para enrofloxacin y ciprofloxacina en tejidos comestibles.
- Determinar los niveles residuales de enrofloxacin y ciprofloxacina en tejidos en función del tiempo.
- Establecer el período de retirada para ovinos, para cada vía de administración, en función de las concentraciones tisulares.

### III. Revisión bibliográfica

### III. Revisión bibliográfica

#### III.1. Antimicrobianos

El descubrimiento de agentes efectivos para prevenir y tratar las infecciones debidas a bacterias y otros microorganismos patógenos es uno de los desarrollos más importantes de la medicina moderna. Sin embargo, el uso de este tipo de agentes no ha sido exclusivo de nuestra era. Durante miles de años se han aplicado sustancias con potencial anti-infeccioso con fines médicos.

Efectivamente, más de 2.500 años atrás los chinos conocían ya las propiedades terapéuticas del cuajo mohoso de la soja aplicado a carbunclos, forúnculos y otras infecciones, y los médicos de la Antigua Grecia, incluyendo a Hipócrates, usaban como rutina sustancias con actividad antimicrobiana tales como vino, mirra y sales inorgánicas en el tratamiento de las heridas. No obstante, la terapia antimicrobiana ha sido estrictamente empírica hasta el descubrimiento de las bases microbianas de las infecciones en el siglo diecinueve, principalmente debido a los trabajos de Louis Pasteur. A principios del siglo XX se encontró que los metales pesados como el arsénico y el bismuto eran útiles contra diversas infecciones, incluyendo la sífilis, aunque se considera que la era moderna de la quimioterapia no comenzó realmente hasta el descubrimiento y uso clínico de las sulfonamidas en 1936 (Andriole, 1991).

Es difícil determinar cuándo comienza la historia de los antimicrobianos. Sin embargo, a principios del siglo XX Paul Erlich anuncia la eficacia del salvarsán para el tratamiento de la sífilis. La primera guerra mundial detiene el desarrollo de los antimicrobianos, que se reinicia con novedades en el terreno de los protozoidicidas, como la atebriina para el tratamiento del paludismo, y la triparisamida para el combate de la enfermedad del sueño (Errecalde, 2004).

Más tarde Domagk demostró que el prontosil, un colorante rojo, tenía efectos terapéuticos en animales infectados con *Streptococcus hemolíticos*. Estas observaciones fueron proyectadas a ensayos en infecciones humanas. El prontosil no tenía efectos antibacterianos *in vitro*, pero se demostró que su acción se debía a la liberación de sulfanilamida en el organismo, la cual, junto con otras sulfonamidas, comenzaron a ser ampliamente y exitosamente usadas (Bywater, 1991).

El prontosil fue ampliamente conocido por el público debido a que logró salvar la vida de Franklin Delano Roosevelt, hijo de un presidente de los EE.UU. (Errecalde, 2004).

Se considera que fueron las sulfonamidas los primeros agentes usados como quimioterápicos, a partir de 1920, (Appelbaum y Hunter, 2000), si bien estas drogas son en sentido estricto más “antibacterianos” que “antibióticos”, debido a que este último término debería reservarse para aquellas sustancias que son producidas por un organismo vivo (Bywater, 1991)

El primer antibiótico verdadero fue la bencilpenicilina (penicilina G). En el año 1928 Fleming encontró que el hongo *Penicillium notatum* producía una sustancia, a la que denominó penicilina, que inhibía el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. Fleming no tuvo éxito en sus intentos por obtener cantidades significativas de esta sustancia, y dejó a un lado el problema mientras continuaba sus estudios acerca de la lisozima (Andriole, 1991).

En el año 1939 se produce un descubrimiento al cual la historia no le ha concedido la importancia que tiene. René Dubois, de la Fundación Rockefeller, descubre la tirotricina, un antibiótico sumamente eficaz pero muy tóxico, que puede usarse solamente en tratamientos locales. Sin embargo, el descubrimiento de un verdadero antibiótico (producido por *Bacillus brevis*) llevó la atención nuevamente a la penicilina (Errecalde, 2004).

Es así que Florey, en la “Sir William Dunn Scholl of Pathology”, retoma el trabajo de desarrollo de la penicilina, y realiza investigaciones sobre su estructura, propiedades y aislamiento. En 1940 su grupo demostró que esta droga protegía a los ratones infectados experimentalmente con Estreptococos, y en 1941 ya habían producido suficiente penicilina para tratar unos pocos pacientes, el primero de los cuales fue un policía inglés infectado con Estafilococos y Estreptococos. Luego, debido a la guerra mundial que se desarrollaba en Europa, la producción de penicilina se llevó a cabo en los EE.UU. Los ensayos clínicos iniciales realizados en Yale y en la clínica Mayo tuvieron tanto éxito que el ejército de los EE.UU. comenzó a usar este compuesto para tratar las infecciones estreptocócicas, gonocócicas y treponémicas. Al progresar las técnicas de fermentación fue posible la producción de grandes cantidades de antibiótico puro, y a fines de la década de 1940 la penicilina G estuvo disponible para uso general en los EE.UU. (Andriole, 1991).

De este modo se inauguró la verdadera Era de la Terapia Antibiótica. Los demás avances fueron los siguientes (Bywater, 1991; Errecalde, 2004) :

**Estreptomicina, 1944;**

**Cloranfenicol, 1947;**

**Clortetraciclina, 1948;**

**Eritromicina, 1952;**

**Vancomicina, 1956;**

**Penicilinas semisintéticas, de 1958 en adelante;**

**Gentamicina, 1963;**

**Cefalosporinas, 1960 en adelante;**

**Fluoroquinolonas, 1980 en adelante.**

Desde el descubrimiento de la penicilina el mercado de las drogas antimicrobianas ha estado dominado por los productos naturales y semi-sintéticos de este grupo de antimicrobianos, compartido con los macrólidos y aminoglucósidos. Las fluoroquinolonas son el único grupo de antimicrobianos sintéticos capaces de rivalizar con los betalactámicos en su impacto en el uso clínico. Sin embargo, en las dos últimas décadas las fluoroquinolonas han pasado de ser un grupo relativamente poco importante de drogas usadas predominantemente para tratar infecciones urinarias, a representar una clase de antimicrobianos con ventas por 3.04 billones de dólares en 1997, con un incremento sustancial en las ventas en la medida que se desarrollan nuevos productos de esta familia (Appelbaum y Hunter, 2000).



### III.1.1. Mecanismos de acción

No es un objetivo de esta revisión hacer una descripción detallada de los antimicrobianos según sus propiedades físico-químicas, mecanismos de acción u otro criterio similar, información que puede encontrarse en cualquier buen texto de farmacología. En cuanto a las fluoroquinolonas, todo lo referido a mecanismo de acción será tratado en la sección correspondiente de esta revisión. Para los fines de nuestro trabajo de tesis, basta decir que los antimicrobianos pueden ser divididos en dos grandes grupos según cómo actúan: aquellos que exhiben una acción dependiente de la concentración y tienen efectos prolongados y persistentes, y aquellos que actúan en forma dependiente del tiempo, con moderados a mínimos efectos persistentes (tabla 1). Las drogas que actúan predominantemente por mecanismos dependientes de la concentración, como lo hacen las fluoroquinolonas, son generalmente bactericidas y tienen un efecto postantibiótico significativo. El éxito terapéutico con este tipo de antimicrobianos está correlacionado con una alta tasa entre el área bajo la curva de concentraciones en el tiempo (ABC) y la concentración inhibitoria mínima (CIM) para el agente patógeno. La relación entre la concentración máxima ( $C_{max}$ ) en plasma o en tejidos y la CIM está también correlacionada con el éxito terapéutico, pero principalmente con la prevención del desarrollo de resistencia bacteriana (AliAbadi y Lees, 2000).

En las drogas que actúan principalmente por un mecanismo dependiente del tiempo, el parámetro que mejor correlaciona con el éxito terapéutico es el tiempo durante el cual la concentración del antimicrobiano se encuentra por encima de la concentración inhibitoria mínima ( $T > CIM$ ) (AliAbadi y Lees, 2000).

Tabla 1: Tipo de acción de las drogas antimicrobianas

Acción	Grupo	Ejemplos
Predominantemente bacteriostática	Fenicoles	Florfenicol, cloranfenicol
	Macrólidos	Eritromicina, tilmicosina
	Lincosamidas	Clindamicina
	Tetraciclinas	Oxitetraciclina, clortetraciclina, doxiciclina
Predominantemente dependiente del tiempo	Penicilinas	Benzilpenicilina, amoxicilina, carbenicilina
	Cefalosporinas	Cefalexina, ceftiofur, cefapirina
Predominantemente dependiente de la concentración (con efecto post-antibiótico significativo)	Aminoglucósidos	Estreptomina, gentamicina, amikacina, tobramicina
	Fluoroquinolonas	Enrofloxacina, danofloxacina, marbofloxacina, difloxacina, etc.

Tomado de Aliabadi y Lees, 2000

### III.1.2. La correcta utilización de antimicrobianos en medicina veterinaria

El empleo de antibióticos en veterinaria tiene dos grandes campos de aplicación: el uso como fármacos de acción terapéutica para el tratamiento de enfermedades, y la aplicación como promotores del crecimiento en animales destinados a carne (Errecalde, 2004).

La relación entre la droga, su esquema de dosificación, y la presión de selección para la aparición de resistencia antibacteriana es compleja y no lineal. Sin embargo, los tratamientos con drogas antimicrobianas tienen cuatro efectos, uno potencialmente benéfico (eficacia clínica) y tres potencialmente dañinos (toxicidad al paciente, inhibición de bacterias no patógenas, y desarrollo de resistencia por la flora normal) (AliAbadi y Lees, 2000).

Las variables farmacocinéticas para una determinada droga por lo común varían ampliamente entre las especies animales, como consecuencia de las diferencias interespecies en anatomía, fisiología y bioquímica, y puede haber también diferencias dentro de una misma especie entre animales sanos y enfermos (Aliabadi y Lees, 2000; Lees y AliAbadi, 2002). Mayores variaciones podrían esperarse en cerdos o aves, cuando las drogas son administradas oralmente mediante alimento o agua medicada, como resultado de las variaciones en ingestión de agua y alimentos, así como en la cinética de absorción y eliminación (Aliabadi y Lees, 2000).

Entre las formas de optimizar el uso de los antimicrobianos ha recibido el mayor énfasis la evaluación farmacocinética, y particularmente la relación farmacocinética-farmacodinamia (PK/PD). La utilización de los parámetros PK/PD ha dado muy buenos resultados, especialmente con las fluoroquinolonas, ya que ha permitido optimizar el régimen de dosificación a fin de mejorar el éxito terapéutico y reducir la selección de mutantes resistentes (Scaglione, 2002). Las relaciones PK/PD son vitales para facilitar la traducción de la actividad antibacteriana en situaciones clínicas, y garantizar que el antibiótico alcance el éxito terapéutico (Scaglione, 2002).

La gran mayoría de las drogas antimicrobianas usadas en medicina humana y veterinaria han sido formuladas en productos aprobados por autoridades nacionales y supra-nacionales. Estos productos poseen autorización, dentro del mercado, para su uso en dosis particulares y en determinadas especies animales, para el tratamiento de enfermedades infecciosas específicas. Uno debiera, por lo tanto, concluir que las dosificaciones han sido optimizadas para alcanzar el éxito

terapéutico. Sin embargo esto no es así, ya que las guías oficiales de autoridades nacionales y supranacionales, usadas por las compañías para determinar los esquemas de dosificación, pueden ser inadecuadas y/o desactualizadas (Lees y AliAbadi, 2002). Además, la industria farmacéutica realiza ensayos de farmacocinética y/o farmacodinamia para las drogas que comercializa, con un esquema de dosificación particular para cada especie, y no recomienda utilizar esa droga en otra especie o bajo otro esquema de dosificación ("extra-label use") hasta tanto se hagan los estudio pertinentes. De esto se desprende la necesidad de realizar estudios de farmacocinética y farmacodinamia cuando se pretende utilizar una droga en otra especie, como es el caso de la enrofloxacin en ovejas, para la cual no existen indicaciones de prospecto.

terapéutico. Sin embargo esto no es así, ya que las guías oficiales de autoridades nacionales y supranacionales, usadas por las compañías para determinar los esquemas de dosificación, pueden ser inadecuadas y/o desactualizadas (Lees y AliAbadi, 2002). Además, la industria farmacéutica realiza ensayos de farmacocinética y/o farmacodinamia para las drogas que comercializa, con un esquema de dosificación particular para cada especie, y no recomienda utilizar esa droga en otra especie o bajo otro esquema de dosificación ("extra-label use") hasta tanto se hagan los estudio pertinentes. De esto se desprende la necesidad de realizar estudios de farmacocinética y farmacodinamia cuando se pretende utilizar una droga en otra especie, como es el caso de la enrofloxacin en ovejas, para la cual no existen indicaciones de prospecto.

### III.2. El problema de los residuos de drogas de uso veterinario

La producción de alimentos de origen animal ha estado inseparablemente unida a la utilización de compuestos químicos a fin de incrementar la producción animal. Dentro del amplio grupo de residuos procedentes de los tratamientos veterinarios se incluyen los compuestos antibacterianos, antimicóticos y antiparasitarios, empleados en la profilaxis y en el tratamiento de diferentes enfermedades animales, y como suplementos alimenticios. Su utilización es necesaria en los modernos sistemas intensivos de cría animal (Martín y col., 1992). Sin embargo, aún cuando el uso de medicamentos mejora la eficiencia en la producción de carne, leche y huevos, su empleo indiscriminado puede traer consigo niveles de residuos que sobrepasan los límites de tolerancia establecidos como no tóxicos para el hombre (Dölz, 1989).

Estos compuestos pueden sufrir transformaciones en los animales, por lo que los remanentes pueden ser el medicamento veterinario original, metabolito/s, o ambos, todos ellos considerados residuos de medicamentos veterinarios o RMV (Cuerpo, 1991).

En un inicio, cuando las metodologías de detección eran poco sensibles, se manejaba la hipótesis de residuo cero. Esto significaba que si se detectaba la sustancia en cuestión en el alimento analizado, éste no era apto para el consumo. Sin embargo, el advenimiento de nuevos métodos analíticos que ponen de manifiesto la presencia de residuos en concentraciones de hasta partes por trillón (ppt), determina que es virtualmente imposible administrar medicamento alguno a un animal sin que pueda ser detectado en la carne, leche o huevos, incluso después de observado el tiempo de espera sugerido para enviar el producto al consumo. Por eso fue necesario recurrir a los límites de residuos, que son concentraciones de droga en determinado tejido por debajo de las cuales ese tejido es considerado seguro para el consumo (Errecalde, 2004).

La idea de que toda sustancia química exógena es potencialmente nociva para el organismo humano hace necesaria la utilización de métodos naturales de producción de alimentos. No obstante, este camino ha demostrado ser incapaz de producir la proteína necesaria para satisfacer los requerimientos del mundo, de modo que para disminuir las posibilidades de muchas personas de padecer hambre, los químicos son considerados como un riesgo necesario.

Por todo esto, es de vital importancia establecer principios para evaluar la seguridad de los residuos de fármacos en los alimentos y determinar, a través de adecuados estudios toxicológicos, farmacológicos y microbiológicos - según sea el caso - los niveles seguros y aceptables que no representen riesgos para el consumidor (Dölz, 1989). Surge así una disciplina, la inocuidad o seguridad alimentaria, que trata de evitar o mantener en niveles seguros las contaminaciones biológicas o químicas (Cuerpo, 1991 ).

### III.2.1. Definiciones

Fármaco de uso veterinario: de acuerdo con el Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios FAO/OMS (1988), denomínase así a toda sustancia aplicada o administrada a un animal productor de alimentos, como carne y leche, aves, peces y abejas, ya sea que se emplee para fines terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico, o para modificación de las funciones fisiológicas del comportamiento.

Antibiótico: tal concepto fue reportado por primera vez por Waksman en 1942 (Prescott y Baggot, 1991): "Los antibióticos son sustancias de acción antimicrobiana producidas por microorganismos o plantas superiores en el curso de su metabolismo normal, sustancias que inhiben el crecimiento de otros microorganismos en concentraciones mínimas" Esta definición ha sido ampliada posteriormente en virtud de los conocimientos adquiridos sobre su obtención, y con el objeto de deslindar otros productos metabólicos: " Un antibiótico es una sustancia químicamente definida, producida por el metabolismo de células vivas y aislada de ellas por primera vez, o uno de sus derivados producidos por métodos sintéticos o biosintéticos, el cual ejerce su acción bacteriostática o bactericida en pequeña concentración contra microorganismos vegetales o animales "

Antimicrobiano: el término antimicrobiano tiene un significado más amplio que el término antibiótico, pues con él se designa a cualquier sustancia de procedencia natural, semisintética, o sintética, que inhibe a un determinado microorganismo o a su crecimiento, y al mismo tiempo, ocasiona escaso o ningún daño al hospedador. No obstante Prescott y Baggot (1991) señalan su uso como sinónimo de antibiótico.

Residuos de medicamentos: medicamentos, metabolito(s) y/o productos de descomposición de ambos, que luego de los procesos de administración, absorción, distribución, biotransformación (o no), son depositados o fijados en las células, tejidos u órganos de un animal (Dölz, 1989). Las cantidades de residuos se expresan en partes por unidades de peso (Errecalde, 2004):

mg/kg o partes por millón (PPM)  
µg/kg o partes por billón (PPB)  
ng/kg o partes por trillón (PPT)  
pg/kg o parte por cuatrillón (PPC)

Residuos totales: los residuos totales de un fármaco en los alimentos de origen animal están constituidos por el producto de origen y todos los metabolitos o derivados farmacológicos que permanecen en los alimentos, después de la administración del fármaco a los animales productores de aquellos (FAO/OMS, Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios, 1989).

Residuos extractables: la misma fuente (FAO/OMS, Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios, 1989) denomina así a los residuos extraídos de los tejidos y humores biológicos valiéndose de medios acuosos ácidos o básicos, disolventes orgánicos, hidrólisis con enzimas, o combinaciones de ellos para hidrolizar los conjugados. Las condiciones de la extracción deben ser tales que no se destruyan los compuestos de interés

Residuos inextractables: se obtienen restando los residuos extractables de los residuos totales, y comprenden los siguientes:

- i) Residuos del fármaco incorporado por medio de las vías metabólicas normales a los compuestos endógenos (por ejemplo, aminoácidos, proteínas y ácido nucleico). Estos residuos no son de interés toxicológico.
- ii) Residuos ligados químicamente, obtenidos por la interacción de los residuos del fármaco de origen o sus metabolitos con macromoléculas. Estos residuos pueden ser de interés toxicológico (FAO/OMS, Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios, 1989).



**Residuo marcador:** es aquel cuya concentración disminuye en una relación conocida con la concentración de residuos totales en los tejidos, los huevos o la leche (FAO/OMS, Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios, 1989).

**Nivel Sin Efectos Adversos Observables (NSEAO):** dosis más alta que no produce efectos adversos observables en la especie animal estudiada más sensible (Errecalde, 2004).

**Dosis sin efecto microbiológico (NMEL):** es el nivel de dosis que no produce efecto contra las especies bacterianas más sensibles, poniendo énfasis en las especies saprófitas del tracto gastrointestinal humano. Este parámetro es muy importante cuando se trata el problema de la resistencia a los antimicrobianos originada por residuos de ellos en los alimentos (Errecalde, 2004).

**Ingesta Diaria Admisible (IDA):** cantidad de un determinado residuo que puede ser ingerido por el hombre a lo largo de su vida, sin que afecte a su salud o a la de su descendencia. La IDA se calcula dividiendo el NSEAO por un factor de seguridad (FS), que se fija en forma arbitraria considerando el grado de certeza con que los resultados toxicológicos pueden extrapolarse a los humanos. Para extrapolar estos resultados al hombre se aplica un factor de seguridad que se ubica normalmente en un valor de 100, aunque puede ser más bajo, y a veces cuando los riesgos lo justifican puede ser tan alto como 1000 (Errecalde, 2004).

$$IDA = \frac{NSEAO}{FS}$$

**Limite Máximo de Residuos (LMR):** concentración máxima de un residuo que es aceptable en un alimento. Se expresa en mg/kg o partes por millón (ppm), µg/kg o partes por billón (ppb), o ng/kg o partes por trillón (ppt). Se establece a partir de la IDA y teniendo en cuenta un peso promedio de 60 kg para el hombre, con una ingestión diaria de alimentos sólidos de 1.500 gr o de 1.500 ml de leche (Dayan, 1993).

$$LMR = \frac{IDA \times 60 \text{ kg}}{\text{factor alimenticio} \times 1,5 \text{ kg}}$$

El "factor alimenticio" es la proporción en la que el alimento considerado integra la ingesta diaria.

El Límite Máximo de Residuos es un concepto más sofisticado que la Ingesta Diaria Admisible, ya que debe tener en cuenta el promedio y el rango de la composición de la dieta, incluyendo alguna concesión para los extremos de preferencia individual y variación estacional, así como edad y sexo. El LMR puede ocasionar divergencias internacionales, ya que reflejaría la pauta dietaria única para cada región geográfica. El LMR y el conocimiento de los hábitos alimenticios convencionales pueden ser usados para calcular la máxima exposición teórica de un consumidor adulto promedio, aunque el nivel real en la mayoría de los casos sea mucho menor, debido a que la mayoría de los alimentos de riesgo contiene nada o un bajo nivel de la sustancia, y se ignoran (en el cálculo) las pérdidas debidas a la preparación y cocción (Dayan, 1993).

Máxima Concentración de Residuos: es la que resulta del uso de un fármaco en veterinaria (expresada en mg/kg o en µg/kg sobre la base del peso de la sustancia fresca), recomendada por la Comisión del Codex Alimentarius para que se pueda usar legalmente o considerar aceptable en un producto alimenticio. Se basa en el tipo y la cantidad del residuo que se considera exento de peligro toxicológico para la salud humana, expresado como Ingesta Diaria Admisible (FAO/OMS, Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios, 1989).

Periodo de abstención: es el intervalo transcurrido entre el momento de la última administración de un fármaco de uso veterinario, y el momento en que el animal se puede sacrificar sin peligro como fuente de alimentos o en que se pueden consumir la leche o los huevos sin que causen daño (FAO/OMS, Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios, 1991).

### III.2.2. Residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos

Se ha expresado ya que si bien el uso de medicamentos veterinarios mejora la eficiencia en la producción de carne, leche y huevos, su empleo indiscriminado puede traer consigo niveles de residuos que sobrepasan los límites de tolerancia establecidos como no tóxicos para el hombre (Dölz, 1989 ).

El posible riesgo para el consumidor por la ingestión de estos residuos de medicamentos veterinarios (RMV) en los alimentos puede, algunas veces, inferirse de los datos toxicológicos de que se dispone cuando las mismas sustancias han sido utilizadas en medicina humana. Sin embargo, existe una importante diferencia a tener en cuenta: cuando un medicamento es utilizado en forma terapéutica en el hombre, éste recibe una dosis relativamente alta durante un corto período, mientras que la ingesta de residuos de la misma sustancia en un alimento será mucho menor, pero puede extenderse a lo largo de la vida (Cuerpo, 1991).

La manera de proteger al consumidor es fijar Límites Máximos de Residuos (LMR) en los alimentos para las sustancias que ofrecen riesgos (Cuerpo, 1991). Al recomendar esas máximas concentraciones de residuos de un compuesto determinado hay que tener en cuenta varios factores. Entre ellos están los resultados de los estudios toxicológicos y de los realizados con residuos marcados con sustancias radioactivas; la biodisponibilidad de los residuos-ligados; los tejidos seleccionados, la existencia de un marcador para determinar la observancia de las concentraciones inocuas de residuos, los datos sobre los residuos cuando los fármacos son bien administrados, los períodos de abstención necesarios para el debido agotamiento de residuos y los métodos prácticos de análisis (FAO/OMS, Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios, 1990).

Después de que se ha establecido un límite máximo de un determinado residuo es preciso calcular, a partir de su cinética, el período de abstención correspondiente, de manera que la concentración de dicho residuo en los tejidos comestibles sea inferior a ese límite, dentro de un marco de seguridad estadística razonable. Por lo tanto, se debe establecer el período de abstención basándose en el límite de tolerancia estadística, con un intervalo dentro del cual se sitúa un determinado porcentaje de la población sobre la que existen datos relacionados con residuos,

con un determinado grado de confianza. (FAO/OMS, Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios, 1991).

### III.2.3. Residuos de antimicrobianos en los alimentos

Los antibióticos son utilizados de diversas formas en medicina veterinaria: en forma terapéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas; con fines metafilácticos cuando se quiere impedir la diseminación de una enfermedad infecciosa hacia todo un lote de animales, o como profilaxis, para prevenir la aparición de este tipo de enfermedades. Finalmente, los antimicrobianos se usan a concentraciones subterapéuticas con fines profilácticos y/o de promoción del crecimiento (Errecalde, 2004).

Al menos algunos de los antibióticos y sulfonamidas empleados en veterinaria llegarán a la gente como residuos en los alimentos que ellos consuman (Waltner-Toews y McEwen, 1994).

En los países desarrollados alrededor del 1 % de los alimentos de origen animal (carne, leche, huevos) contienen antibióticos detectables (por métodos microbiológicos) en concentraciones cercanas a 1 ppm, encontrándose las cifras más importantes en canales sospechosas y en productos específicos tales como riñón de cerdo (Corpet y Brugere, 1995).

No obstante la considerable controversia existente al respecto, la utilización de antimicrobianos en las prácticas corrientes de manejo animal es necesaria para el mantenimiento de la salud y el mejoramiento de la producción. La eliminación de los antibióticos de la medicina y producción animal sería una privación tanto inhumana como antieconómica para los productores y consumidores (Teske, 1993), y no harían más que reducir la productividad a niveles alarmantes en regiones del planeta que las necesitan elevadas, aumentar el mercado negro y las fabricaciones ilegales y carentes de todo control, el contrabando y la pérdida de control sobre el flujo de antimicrobianos en el mundo, lo cual paradójicamente puede impactar negativamente en, por ejemplo, los niveles de resistencia antimicrobiana (Errecalde, 2004).

#### **III.2.4. Riesgos de la presencia de residuos de drogas antimicrobianas en los alimentos:**

La mayoría de los artículos de revisión sobre residuos de antibacterianos en alimentos de origen animal han concluido que toxicológicamente existen peligros potenciales a partir de algunos de ellos, pero que el riesgo al público es probablemente mínimo (Waltner-Toews y McEwen, 1994).

Sin embargo, deben tenerse en cuenta otros efectos que no han sido previamente considerados como estrictamente tóxicos, pero que son farmacológicamente adversos. Estos efectos adversos incluyen aquellos específicos debidos a los residuos de drogas veterinarias con acción antimicrobiana, principalmente antibióticos (Boisseau, 1993). Por ejemplo, la materia fecal blanda o la diarrea que sigue a la administración oral de antibióticos es generalmente considerado un efecto biológico indirecto más que un efecto verdaderamente tóxico de la droga (Teske, 1993). Por eso, considerando que debe protegerse la salud del consumidor, estos efectos adversos deben ser tenidos en cuenta al determinar los Niveles sin Efectos Adversos Observables, los cuales pueden no ser una dosis verdaderamente tóxica (Teske, 1993).

Los residuos de antibacterianos en alimentos de origen animal pueden causar problemas por varias razones (Boisseau, 1993; Corpet, 1993; Dayan, 1993; Waltner-Toews y McEwen, 1994; Corpet, 1995; Errecalde, 2004).

- toxicidad directa,
- reacciones alérgicas,
- alteración de la flora intestinal normal en el hombre;
- desarrollo de resistencia a los antimicrobianos en las bacterias que afectan al hombre y a los animales,
- interferencia con los cultivos iniciadores en alimentos fermentados.

#### Toxicidad directa:

Los residuos de antibacterianos en concentraciones suficientemente altas pueden ser tóxicas, pero es también posible que la interacción de los antibacterianos con otras drogas produzca toxicidad, tal como ha ocurrido con la eritromicina en particular. Existe alguna evidencia de que muchos antibióticos pueden ser inmunodepresores, y de que algunos no debieran ser administrados en combinación con vacunas vivas o glucocorticoides (rifampicina, cloranfenicol). Sin

embargo, tales interacciones han sido reportadas solo a dosis terapéuticas, y podrían ser irrelevantes en los niveles de droga encontrados como residuos en los alimentos (Waltner-Toews y McEwen, 1994).

### Reacciones alérgicas

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (1990) consideró los posibles riesgos para la salud humana originados en los residuos de fármacos de uso veterinario con propiedades alergénicas presentes en los alimentos. Este Comité reconoció que varias drogas empleadas en los productos farmacéuticos para uso humano y veterinario habían producido reacciones alérgicas en el hombre. Sin embargo, y pese al difundido empleo de los medicamentos veterinarios, hay muy pocas publicaciones en las que se trata la posible relación que guardan los residuos de esos productos con las reacciones alérgicas de los consumidores.

Las penicilinas y en menor medida otras sustancias antimicrobianas son capaces -bajo ciertas circunstancias- de actuar como inmunógenos, ya sea en forma directa o mediante haptización de proteínas. El desafío por vía oral puede producir reacciones cutáneas y alérgicas (Tipos I-IV), y aún raramente anafilaxia (Dayan, 1993). Ciertamente los betalactámicos parecen ser responsables de la mayoría de las reacciones alérgicas a los antibióticos reportadas en humanos (Waltner-Toews y McEwen, 1994), aunque las reacciones más severas y fatales a los betalactámicos se produjeron en individuos que no habían sufrido nunca una reacción alérgica (Weiss y Adkinson, 1991). En estas personas la sensibilización pudo haberse producido durante el último tratamiento con penicilina, o por exposición ocupacional (en el caso de personal médico o vinculado a la preparación de este producto), o -menos probablemente- debido a exposiciones ambientales ocultas, por ejemplo consumo de leche o carne de vacas tratadas con penicilina, presencia de penicilina en otros alimentos, o en leche materna en caso de lactantes (Weiss y Adkinson, 1991). Sin embargo, los residuos de estos antimicrobianos en los animales de consumo están en mucha menor cantidad que luego de un tratamiento directo en las personas, y es muy poco probable que ocurra sensibilización por este medio (Dayan, 1993). Un desafío oral con la concentración residual similar a la encontrada en los alimentos puede muy raramente producir una

respuesta alérgica en alguien ya sensibilizado. Esta reacción parece desarrollarse con una muy baja frecuencia en vista de la rareza de reportes, en contraste con la alta frecuencia de sensibilización de la población (hasta 7-10 % a la penicilina) (Dayan, 1993).

Sundlof (1994), en una revisión sobre los riesgos a la salud humana asociados con residuos de drogas en alimentos de origen animal, enfatiza lo siguiente:

- los residuos se hallan comprometidos con un muy pequeño porcentaje de alergias alimentarias. Los alérgenos mayormente involucrados son constituyentes naturales de los alimentos o aditivos;
- las observaciones clínicas reportan frecuentemente alteraciones cutáneas, pero nunca ha sido notificado un shock anafiláctico;
- en la mayoría de los casos, los residuos son involucrados sin la suficiente evidencia diagnóstica.

En base a varios casos de efectos adversos debidos a residuos de drogas en los alimentos, Sundlof (1994) hace notar que casi todos esos reportes implican a la penicilina como agente causante, y que las fuentes de los residuos de esta droga eran mayoritariamente la leche y sus productos. Destaca también que esos residuos provenían, con la mayor probabilidad, de infusiones intramamarias de penicilina usadas como tratamiento de mastitis. En todos los casos las víctimas reportaron una historia de alergia a la penicilina o de enfermedad cutánea no relacionada a esta alergia.

#### Alteración de la flora intestinal normal:

El efecto barrera o resistencia a la colonización es la acción antagonista ejercida por ciertas bacterias de la microflora intestinal normal hacia la proliferación de bacterias patógenas, oportunistas o resistentes a los antibióticos provenientes del exterior (Corpet y Brugere, 1995). Los residuos de antibióticos, todavía con actividad antimicrobiana, son potencialmente capaces de modificar la microflora intestinal de los consumidores (Boisseau, 1993; Corpet, 1993; Corpet y Brugere, 1995). Estos residuos pueden matar ciertas bacterias o disminuir su aptitud a proliferar dentro del intestino. El daño a ciertas poblaciones bacterianas pertenecientes a la flora normal,

permite el desarrollo de otros microorganismos. Esto debilita el efecto barrera que ejercen las bacterias normales, y este debilitamiento de las barreras microbiológicas puede tener ciertas consecuencias de innegable importancia para la salud individual o pública, como por ejemplo (Corpet y Brugere, 1995):

- bacterias patógenas en tránsito, o presentes en pequeño número, pueden predominar en el ecosistema digestivo y provocar una enfermedad grave (*Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Campylobacter* spp.);
- bacterias oportunistas (Enterobacterias, Pseudomonas, Enterococos, Estafilococos, levaduras), potencialmente patógenas para ciertos individuos sensibles (inmunodeprimidos, cateterizados) pueden aumentar su número en el intestino, incrementando el riesgo de infección para el individuo y el riesgo de dispersión hacia el resto de la población

#### Resistencia bacteriana:

El riesgo más grande para la salud de los consumidores que implica la utilización de antibióticos en animales no está dado por la toxicidad de los residuos en sí, sino por el desarrollo de resistencias en bacterias de los mismos animales (Errecalde, 2004). En cuanto a la acción de los residuos de antibióticos sobre las cepas bacterianas, pueden ocurrir varias situaciones indeseables (Prescott y Baggot, 1991; Errecalde, 2004):

- selección de cepas resistentes en animales alimentados con antibióticos a bajos niveles;
- selección de cepas resistentes en humanos que consumen alimentos con residuos de antibióticos;
- riesgo de transferencia de resistencia entre poblaciones bacterianas de animales entre sí, de animales al hombre o viceversa.

Además, los medicamentos seleccionan bacterias resistentes en los animales, lo que puede favorecer la diseminación de genes de resistencia a bacterias autóctonas de la flora del hombre (Corpet y Brugere, 1995; Errecalde, 2004)

No existen -al presente- estudios de los que se pueda inferir cuál es en el hombre el tiempo mínimo requerido de exposición del tracto gastrointestinal a residuos de antibióticos para que se originen problemas de resistencia, como tampoco cuál es la concentración mínima de antibióticos que provoque ese fenómeno (Cuerpo, 1991).



Los resultados obtenidos *in vivo* (Espinasse, 1993) mostraron que las concentraciones de antibióticos que pueden alcanzarse como residuos en carne o leche no pueden ser responsables del gran incremento en el número de bacterias resistentes, a menos que esos niveles representen una Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) para bacterias sensibles. Estas conclusiones se basaron en el criterio de que en los alimentos provenientes de animales tratados con antibióticos, no pueden tolerarse niveles de residuos que tengan actividad antimicrobiana (Cuerpo, 1991). Sin embargo, estudios posteriores comprobaron que la CIM no era un límite suficientemente seguro, ya que concentraciones de residuos de antibióticos por debajo de ella favorecieron el crecimiento de bacterias resistentes, o causaron cambios relevantes en el desarrollo de resistencia por plásmidos. En consecuencia se introdujo una modificación, estableciendo un factor de seguridad de 20, de manera que para proteger al consumidor los residuos deben ser menores o iguales a la CIM/20 (Cuerpo, 1991).

#### Interferencia con cultivos iniciadores

Otros de los aspectos a considerar cuando hablamos de residuos de antibióticos es la incidencia que ellos tienen en los procesos de industrialización. Los cultivos iniciadores ("starters") para productos lácteos son sensibles a concentraciones relativamente bajas de antimicrobianos, ocasionando problemas en la elaboración de productos fermentados (yoghurt, quesos). Asimismo, en la productos cárneos conservados por acción de bacterias lácticas (chacinados madurados o carne envasada en atmósferas modificadas) los residuos pueden impedir el desarrollo de la flora favorable, provocando alteración del producto a causa de la proliferación de bacterias indeseables y de mayor resistencia a los antibióticos (FAO/OMS, Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios, 1990).

### III.2.5. Antimicrobianos de uso veterinario potencialmente peligrosos

Hay un gran número de drogas antibacterianas, permitidas y no permitidas, disponibles para el uso en animales. Si bien en la mayoría de ellas la toxicidad es poco significativa y sus residuos -según una mera consideración toxicológica- podrían ser inocuos, deberíamos poner nuestra atención en aquellas drogas que aparecen de tanto en tanto en los alimentos de origen animal, y que son potencialmente peligrosas para la salud pública en virtud de su toxicidad o alergenicidad.

Tetraciclinas: son relativamente atóxicas para el hombre y los animales, pero a dosis terapéuticas están ocasionalmente asociadas con cambios sanguíneos, coloración de huesos y dientes, y reacciones alérgicas en humanos. Existe alguna evidencia de que a dosis relativamente bajas (en el orden de 20 mg por persona/día) pueden tener algún impacto sobre la flora fecal anaerobia de los humanos. En base a esta observación fue fijada una dosis diaria admisible para humanos de 0-0.003 mg/kg (Waltner-Toews y McEwen, 1994)

Betalactámicos: son también relativamente atóxicos a dosis terapéuticas. Algunos antibacterianos nuevos de esta familia, tales como el imipemem y algunas cefalosporinas, son más tóxicos. A pesar de su naturaleza no-tóxica, los  $\beta$ -lactámicos parecen ser responsables de la mayoría de las reacciones alérgicas a los antibióticos reportadas en humanos, según ya se expresó. De los individuos que presentan estas reacciones, algunos parecen ser particularmente sensibles y pueden responder a niveles muy bajos (menos que 0.01 IU/ml de leche). El ínfimo número de casos documentados relacionados con los alimentos y los mecanismos inmunológicos sugieren que niveles por debajo de 0.01 ug/ml de penicilinas en alimentos no son alérgicamente importantes, aunque existan muy pocos individuos con extrema sensibilidad que pueden reaccionar en forma idiosincrásica (Waltner-Toews y McEwen, 1994).

Cloranfenicol: los riesgos de esta droga en el uso clínico en humanos incluyen: depresión reversible de la médula ósea dependiente de la dosis, síndrome del bebé gris, y anemia aplásica irreversible idiosincrásica (no relacionada con la dosis) que ocurre en cerca de 1 de cada 30.000 pacientes tratados. Ha sido también observada leucemia en pacientes que sobrevivieron a la depresión de medula ósea luego del tratamiento con cloranfenicol. (Waltner-Toews y McEwen,

1994). Sin embargo, la Junta FAO/OMS del Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios (1988) concluyó que no pudo determinarse una Ingestión Diaria Admitida para el cloramfenicol. Debido a que no se ha establecido una dosis segura para esta droga, es raramente usada en medicina humana, y en muchos países se ha prohibido el uso de este antibiótico en los animales productores de carne (Waltner-Toews y McEwen, 1994).

Aminoglucósidos y otros: entre los antibióticos de este grupo son ampliamente usados en animales de producción la estreptomicina, dihidroestreptomicina, gentamicina y neomicina. Todos ellos son tóxicos, y pueden producir daño en las funciones urinarias, vestibulares y auditivas. Las reacciones alérgicas han estado asociadas con el uso terapéutico de estas drogas en humanos (Waltner-Toews y McEwen, 1994).

Quinolonas: hay hallazgos tóxicos experimentales reportados para casi todas las quinolonas. Ellos incluyen a) efectos sobre el sistema nervioso central; b) efectos cardiovasculares; c) efectos gastrointestinales; d) condrotoxicidad; e) toxicidad reproductiva y sobre el desarrollo; f) genotoxicidad; g) fototoxicidad; y h) carcinogenicidad (Takayama y col., 1995).

### III.2.6. Exposición a los residuos de antimicrobianos:

Los residuos de antibacterianos pueden estar presentes en los alimentos de origen animal como resultado de contaminación ambiental (administración no intencional), administración con los alimentos para la prevención de enfermedades o como promotores de crecimiento, o por tratamiento individual de animales enfermos (Waltner-Toews y McEwen, 1994).

Cuando un antibiótico se aplica a los animales con fines terapéuticos, se elimina con mayor o menor velocidad, dependiendo fundamentalmente de la vía de administración, de su afinidad por los tejidos, y de la forma de eliminación, es decir, de su farmacocinética. Por lo cual, para evitar la presencia de residuos en la carne hay que conocer y respetar el tiempo de depleción del antibiótico, previo al sacrificio del animal (Gesche, 1986). Los estudios de cinética de los antibióticos utilizados en medicina veterinaria, y que pueden ser fuente de residuos en carne o leche, han permitido sugerir una clasificación en los grupos que se indican (Zurich y San Martín, 1994):

**Grupo 1:** Antibióticos hidrosolubles, de rápida absorción y mayor al 90 % desde el punto de aplicación. Escasa unión, y muy lábil, a las proteínas plasmáticas y tisulares con volúmenes de distribución bajos (<1), y rápida eliminación. Comprende a las penicilinas naturales (bencilpenicilina sódica y potásica) y semisintéticas (ampicilina, amoxicilina, cloxacilina), cefalosporinas y sulfas de duración corta e intermedia (todos en forma de sales solubles y vehículos de liberación rápida). Estos antibióticos presentan menores posibilidades de originar residuos y sus períodos de resguardo son más cortos

**Grupo 2:** Antibióticos de absorción rápida o a moderada velocidad, determinada en algunos casos por el excipiente. La absorción no supera el 70 %. Volumen de distribución superior a 1 y vida media de 3 a 6 horas. Entre los antibióticos pertenecientes a este grupo deben mencionarse la eritromicina, tilosina, espiramicina, sulfametazina; más los compuestos del grupo 1 con vehículos que demoran su absorción (penicilina procaínica y benzatínica). Las tetraciclinas, especialmente las de larga acción, pertenecen a este grupo.

**Grupo 3:** Corresponden a antibióticos de absorción lenta y, a menudo, incompleta. Presentan volúmenes de distribución superiores a 2, 3 o más L/kg. Con vidas medias de eliminación superiores a 12 horas, producto, en la mayoría de los casos, de su gran afinidad por proteínas plasmáticas o tisulares. Aquí es necesario mencionar a sulfas de larga duración y a los aminoglucósidos.

Diferente es la situación cuando los antibióticos se administran como promotores del crecimiento, en que se persigue una ingesta diaria de una dosis subterapéutica para mejorar la eficiencia de conversión alimenticia. En este caso hay que tener presente que tanto el animal como su flora bacteriana están expuestos, durante un período prolongado, a una concentración baja del antibiótico, pudiendo inducir resistencia bacteriana (Gesche, 1986).

En general, la violación de los límites de residuos en tejidos de cerdos y aves resulta del uso de estas drogas en la alimentación, combinado con fallas en la observancia de los tiempos de retirada. Mientras que en la leche, y en carnes de terneros y de vacas lecheras de descarte, las violaciones de los niveles de residuos son a menudo el resultado de usos terapéuticos (Waltner-Toews y McEwen, 1994).

Otro aspecto importante a considerar sobre la presencia de residuos de antibióticos es conocer si el cocinado normal de los alimentos los inactiva desde el punto de vista microbiológico (pérdida de la actividad microbiológica). Los resultados obtenidos por diferentes investigadores indican que el tratamiento culinario normal de los alimentos no inactiva los residuos de los antibióticos más sensibles (penicilina y tetraciclina) que pudieran encontrarse en los alimentos. El

calentamiento más intenso que tiene lugar en los alimentos enlatados puede inactivar alguno de los antibióticos más sensibles, pero otros, como la neomicina y estreptomicina, pueden estar todavía presentes (Martín y col, 1992).

### **III.2.7. Residuos de antimicrobianos en tejidos animales**

En una revisión de investigaciones regulatorias sobre violaciones de residuos de antibacterianos en carnes conducidas por la Food and Drugs Administration de los EE.UU. (FDA), Van Dresser y Wilcke (1989) encontraron que las fallas en la observación de los tiempos de retirada –mayormente debidas a falta de conocimiento- era la principal causa de la presencia de los residuos dentro de niveles inaceptables. Esto es consistente con la observación de Rossiter y Hutchinson (1984, citado por Waltner-Toews y McEwen, 1994) sobre el problema de los residuos de sulfamidas en terneros: los productores desconocían que a veces es necesario un prolongado período de retirada o que sus animales iban directamente a faena cuando eran vendidos.

Van Dresser y Wilcke (1989) encontraron también que los grupos de animales con mayores niveles de residuos de antibacterianos en los EE.UU. fueron (en orden ascendente): vacas lecheras de descarte, terneros y cerdos. Es probable que éste sea el caso en otros países, como así también que dependa de la droga usada, los volúmenes, frecuencias y rutas de administración, y de la proximidad temporal del tratamiento con la faena (Waltner-Toews y McEwen, 1994).

### **III.2.8. Residuos de quinolonas en tejidos animales**

Por tratarse esta tesis de un estudio en el cual, además de las características farmacocinéticas de la enrofloxacin en plasma serán considerados sus niveles en tejidos, expondremos algunos trabajos de residuos de quinolonas en tejidos animales.

Luego de la administración de norfloxacin a pollos a dosis de 8 mg/kg/día, durante 4 días consecutivos, se hallaron considerables concentraciones tisulares del antimicrobiano y sus metabolitos en grasa, riñones e hígado, hasta 12 días después de la supresión del tratamiento (Anadón y col., 1992).

En un tratamiento similar (Rolinski y col.,1997), se determinó el nivel de residuos de norfloxacin en pollos y gallinas ponedoras luego de la administración de esta droga con el agua de bebidas (2,5 g/L) durante 5 días. El contenido de norfloxacin en tejidos de parrilleros, y en huevos, aumentaba constantemente durante la aplicación de la droga, para comenzar a eliminarse rápidamente al finalizar el tratamiento. Al primer día luego de la supresión del tratamiento las mayores concentraciones se midieron en hígado y las menores en corazón. Al tercer día post-tratamiento se hallaron los mayores niveles en músculos. No se hallaron residuos de norfloxacin en ningún tejido en los días 6, 7 y 9 luego del tratamiento, a excepción del tejido muscular donde fueron detectados residuos al día 9. Teniendo en cuenta el Límite Máximo de Residuos para la norfloxacin, se establecieron los siguientes tiempos de espera luego de los 5 días de tratamiento: tejidos 5 días; huevos 6 días.

Iturbe y col. (1997) luego de administrar ciprofloxacina a pollos, reportaron concentraciones medias de la droga y sus metabolitos en tejidos que variaron entre 0.005 y 0.026 µg/g al día 12 post-tratamiento.

Cuando se trató a pollos parrilleros con flumequine en el agua de bebida a una dosis de 12mg/kg/día durante 5 días consecutivos, las mayores concentraciones, luego de la finalización del tratamiento, se encontraron en riñones, siguiéndoles en orden decreciente el hígado, músculos, y piel/grasa. Considerando los LMR de la European Comission para esta droga, se establecieron tiempos de espera de 12 horas para riñones, 24 h para hígado y 48 para músculos y piel/grasa (Guyonnet y col.,1997).

El tiempo de retirada para salmones (*Oncorhynchus kisutch*) luego de la administración intraperitoneal de norfloxacin a una dosis de 40 mg/kg, y a 10 °C de temperatura ambiente, se predijo en 30 días (San Martín y col.,1997).

### III.2.9. Residuos de enrofloxacin en tejidos animales

Se evaluó la persistencia de residuos en músculo, hígado, riñones y grasa abdominal de vacas lecheras tratadas durante 5 días consecutivos con una dosis terapéutica de enrofloxacin por vía I.V.. Los resultados demostraron que los residuos de enrofloxacin y su metabolito ciprofloxacina pudieron ser evaluados en estos tejidos solamente el 1er. día post-tratamiento, a excepción del hígado, donde la ciprofloxacina estuvo presente en el día 4 en concentraciones cercanas al límite de cuantificación por HPLC (Krebber y col., 1997).

Malbe y col. (1996), trabajando con enrofloxacin en vacas lecheras (inyección intraarterial), determinaron que luego de un tiempo la farmacocinética se volvió no lineal y hubo un fenómeno de cola ("tailing"). La cola de enrofloxacin mostró una vida media aparente ( $t_{1/2}$ ) de 10 horas. Esto indicaba un depósito en un tejido que se equilibra lentamente. Los autores opinaron que si bien esta cola no tenía ninguna relevancia para la terapia, podía ser importante cuando el residuo de la droga era de interés (Malbe y col., 1996).

En otro estudio (Anadón y col., 1995a) en el cual se trató a pollos con 10 mg/kg de enrofloxacin en forma oral durante 4 días, no se detectó en plasma la droga ni su metabolito ciprofloxacina a los 6 días posteriores a su administración. Los dos compuestos fueron eliminados más lentamente de los tejidos que del plasma. Concentraciones medias que variaron entre 0.020 a 0.075  $\mu\text{g/g}$  del metabolito ciprofloxacina fueron halladas el día 12 en músculo, hígado y riñones. Sin embargo, en ese momento los residuos de enrofloxacin solamente fueron detectados en hígado a una concentración media de 0.025  $\mu\text{g/g}$ .

Hrvacic y col. (1997) sostienen que, teniendo en cuenta los LMR para la suma de enrofloxacin y ciprofloxacina en alimentos, son necesarios 6 días de retirada luego de un tratamiento en pollos con 7 mg/kg de enrofloxacin en la ración.

Se ha reportado pasaje de enrofloxacin a huevos de gallinas ponedoras. García Ovando y col. (1997b) encontraron que las concentraciones de enrofloxacin detectadas en huevos hasta 6 días luego del tratamiento de las gallinas (5 mg/kg/día, durante 5 días), estaban por encima de los Límites Máximos de Residuos estipulados por la Unión Europea. Cuando se compararon tratamientos con enrofloxacin y ciprofloxacina a idénticas dosificaciones, las concentraciones de la

primera fueron 6 veces mayores que las de la segunda, demostrando una mayor transferencia a los huevos de enrofloxacin. Esto exige un tiempo de espera de 6 días para la enrofloxacin y 5 días para la ciprofloxacina si no se quieren violar los niveles aceptables de residuos para este tipo de productos.

### III.2.10. Residuos de enrofloxacin en leche

Si bien las primeras comunicaciones, basadas en estudios realizados por métodos microbiológicos hablaban de una alta concentración de enrofloxacin en leche (Scheer y De Jong, 1987b), ensayos más recientes (Kaartinen y col.,1995; Malbe y col.,1996) demostraron claramente que es la ciprofloxacina más que la enrofloxacin la que se acumula en leche.

Los resultados del trabajo realizado por Kaartinen y col. (1995) demostraron que el pico de concentraciones en leche para la enrofloxacin después de la administración I.V. se alcanzó a la hora como promedio, mientras que para la ciprofloxacina lo fué entre 5 a 8 hs. Esta diferencia no se notaba para las vías I.M. y S.C., donde las curvas concentración-tiempo de enrofloxacin y ciprofloxacina fueron poco pronunciadas y sin picos evidentes. La concentraciones de enrofloxacin en leche siguieron en forma paralela a las del plasma, encontrándose en ella aproximadamente el 0.2 % de la dosis total durante las primeras 24 horas. En contraste, la ciprofloxacina se concentró en leche alcanzando niveles mayores que en el plasma.

En un ensayo similar (Malbe y col.,1996), en el cual se inyectó enrofloxacin por vía endovenosa, se determinó que el contenido de esta droga en leche de balde caía, en el segundo ordeño, a una décima parte del hallado en el primero (realizado éste a las 6.5 horas de la inyección), y de nuevo a una décima parte en el tercero. El análisis de muestras de leche de balde de estos tres primeros ordeños mostraron que el 0.04 % de la dosis total de enrofloxacin fué recuperada como droga madre (droga libre en suero lácteo más droga ligada a la caseína), y un 0.8 % -o sea 20 veces más- como el metabolito ciprofloxacina. Estos datos mostraron que la enrofloxacin es reabsorbida desde leche a sangre, o metabolizada a ciprofloxacina, y que hay una gradual acumulación de este metabolito en leche. De modo que, si la que domina en leche es la droga madre o su metabolito activo, depende del momento del ordeño con respecto a la administración de la enrofloxacin,



existiendo una mayor recuperación total de ciprofloxacina que de enrofloxacina en leche (Tabla 2) (Malbe y col., 1996).

**Tabla 2** Parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacina y su metabolito ciprofloxacina en suero sanguíneo y suero de leche, luego de la inyección de enrofloxacina a 5 mg/kg (los datos representan las medianas de 4 vacas) (Malbe y col., 1996)

	<b>C<sub>max</sub></b> (mg/L)	<b>T<sub>max</sub></b> (min)	<b>AUC</b> (mg/min/L)	<b>t<sub>1/2β</sub></b> (min)
enrofloxacina sangre	5.4	2	444	65.4
ciprofloxacina sangre	0.55	32	131.5	160
enrofloxacina leche	1.79	46	398	92
ciprofloxacina leche	1.22	480	950	-

**C<sub>max</sub>** : Máxima Concentración plasmática; **T<sub>max</sub>** Tiempo en que se alcanza la máxima concentración; **AUC**: Área bajo la curva concentración vs. Tiempo; **T<sub>1/2β</sub>** : Semivida de eliminación

Krebber y col. (1997) encontraron que en vacas lecheras tratadas con enrofloxacina a dosis terapéuticas durante 5 días, se pudo demostrar residuos de la droga madre en leche durante 3 días, y de su metabolito ciprofloxacina hasta 4 días en algunas muestras.

### III.2.11. Evaluación de la seguridad de los residuos de medicamentos:

En la evaluación de la seguridad de los medicamentos usados ***debe prestarse especial importancia a los estudios farmacocinéticos***, por cuanto permiten hacer un análisis más dinámico que la sola determinación del nivel de residuos en tejidos comestibles (Dölz, 1989 ).

Estos estudios proporcionan información sobre:

- absorción del medicamento,
- distribución del medicamento a diferentes partes del organismo,
- fijación a los tejidos,
- biotransformación del medicamento y de sus metabolitos, y
- excreción.

A través de estudios farmacocinéticos es posible evaluar la velocidad de eliminación, estableciéndose la vida media biológica de un medicamento o metabolito. Este conocimiento constituye la base para establecer el período de suspensión que permita que los residuos tisulares disminuyan hasta alcanzar concentraciones iguales o menores que los niveles de tolerancia aceptables (Dölz, 1989). Si bien los estudios farmacocinéticos no están contemplados en la estimación del período de suspensión o tiempo de retirada, la vida media de eliminación (un parámetro farmacocinético bien estudiado) brinda las bases teóricas para determinarlo (Riviere, 1991)

La expansión y racionalización de la información respecto de los residuos resultantes de los distintos tratamientos, y el desarrollo de modelos matemáticos y computacionales más precisos para predecir la presencia de los mismos, deberían ser combinados con el aporte de más conocimientos farmacocinéticos a los veterinarios, y con el uso de pruebas a campo para detección de esos residuos (Waltner-Toews y McEwen, 1994).

### III.3. Historia, Clasificación y Estructura Química de las Quinolonas

#### III.3.1. Historia

Desde el descubrimiento de la penicilina en 1928, y su utilización en la década de 1940, el campo de los antimicrobianos ha estado dominado durante casi 50 años por productos naturales o semi-sintéticos, con los betalactámicos, macrólidos y aminoglucósidos ocupando el mayor espacio en el mercado. Sin embargo, hoy en día las fluoroquinolonas son los únicos agentes antimicrobianos capaces de rivalizar con los betalactámicos en la extensión del uso clínico. En dos décadas, las fluoroquinolonas han pasado de ser un pequeño grupo de drogas de relativa importancia usado casi exclusivamente en infecciones urinarias, a ser una clase de antimicrobianos de ventas mundiales mayores a los 3 mil millones de dólares anuales (Appelbaum y Hunter, 2000).

Existen ahora numerosas fluoroquinolonas nuevas, con modificaciones estructurales, lo que le ha permitido a este grupo de drogas desarrollarse desde antiguos compuestos de limitada utilidad a nuevos agentes de amplio espectro de actividad y excelente comportamiento farmacocinético (Appelbaum y Hunter, 2000).

Las quinolonas tienen como origen la utilización de un agente contra la malaria, la cloroquina. Este compuesto fue luego modificado para dar origen en 1962 al primer derivado quinolónico

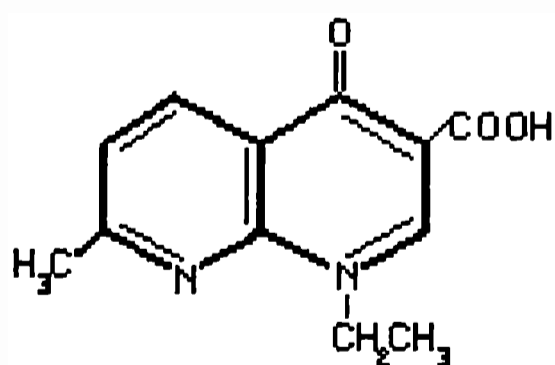
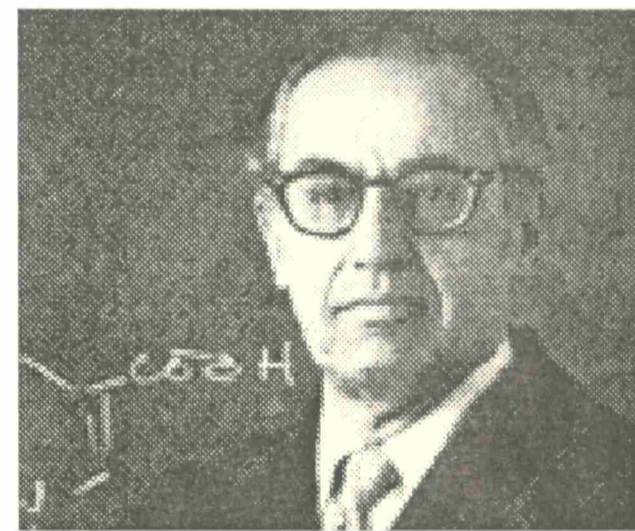


Figura 1. Ácido nalidíxico

con actividad antibacteriana, el **ácido nalidíxico**, sintetizado por Lesher y colegas (Fig. 1) (Goldstein, 1987; Bryskier y Chantot, 1995; Appelbaum y Hunter, 2000).



George Y. Lesher

El ácido nalidíxico se caracteriza por una modesta actividad contra bacterias Gram-negativas, poca absorción por vía oral, y rápida aparición de cepas bacterianas resistentes. Su concentración en orina es alta, sin embargo, y el compuesto aún se utiliza en las infecciones urinarias (Appelbaum y Hunter, 2000).

En la década de los 70 se introdujeron el **ácido oxolínico** y la **cinoxacina**. El empleo de estos compuestos resultó inicialmente exitoso contra bacterias Gram-negativas, con excepción de *Pseudomonas*. Sin embargo, en la práctica mostraron numerosos inconvenientes tales como: escaso margen terapéutico, tropismo urinario exclusivo, limitada distribución y biodisponibilidad, y rápida aparición de resistencia bacteriana. Además producían numerosos efectos colaterales gastrointestinales y dermatológicos, incluyendo náuseas, vómitos, diarrea, erupciones cutáneas y dermatitis, como asimismo alteraciones del SNC (Neer, 1988; Vancutsem y col., 1990; Andriole, 1991).

Investigaciones posteriores dieron lugar a dos derivados, el **ácido pipemídico** y el **flumequine**. El ácido pipemídico tiene la misma actividad antibacteriana que el ácido nalidíxico, más alguna actividad contra bacterias Gram-positivas, pero es parcialmente activo contra los microorganismos nalidíxico-resistentes. El flumequine es 10 veces más activo contra bacterias Gram-negativas comparado con el ácido nalidíxico (Bryskier y Chantot, 1995; Appelbaum y Hunter, 2000).

El descubrimiento del efecto favorable de la combinación de un anillo piperazinil en posición 7, y de un átomo de flúor en posición 6 del núcleo quinolónico, dió lugar a la síntesis de la norfloxacin y origen a las **fluoroquinolonas**. Estas drogas están caracterizadas por presentar una notable potencia bactericida, no sólo sobre la flora Gram-positiva (incluidos los estafilococos meticilino resistentes) y Gram-negativa (incluyendo *Pseudomonas*), sino también sobre clamidias, micoplasmas y micobacterias, además de poseer mejores características farmacocinéticas que sus antecesores, (Bryskier y Chantot, 1995; Brown, 1996; McKellar, 1996; Appelbaum y Hunter, 2000). Luego de que la norfloxacin fuera patentada en 1978, muchas otras fueron patentadas en los siguientes 3 años, incluyendo la pefloxacin (patentada en 1979), enoxacin (1980), fleroxacin (1981), ciprofloxacina (1981) y ofloxacina (1982) (Appelbaum y Hunter, 2000).

Estos compuestos han surgido como la clase antimicrobiana más destacada de la década de los '90, con miles de trabajos publicados y varios libros escritos acerca de ellas, y están siendo sometidas a una extensiva investigación, tanto en medicina veterinaria como en medicina humana, en el tratamiento de una variedad de infecciones bacterianas (Brown, 1996). En algunos países representan el rubro comercialmente más productivo de la industria farmacéutica veterinaria (Sumano López, 1993).

El número de fluoroquinolonas utilizadas en medicina humana es muy grande, incluyendo: ciprofloxacina, clinafloxacina, fleroxacina, gatifloxacina, gemifloxacina, grepafloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, sitafloxacina, sparfloxacina, temafloxacina, tosufloxacina y trovafloxacina. Temafloxacina, trovafloxacina y grepafloxacina han sido recientemente retiradas del mercado debido a sus efectos colaterales (Appelbaum y Hunter, 2000). Las más notables entre las desarrolladas y usadas en medicina veterinaria incluyen la enrofloxacina, danofloxacina, ciprofloxacina, norfloxacina, amifloxacina, marbofloxacina, benofloxacina, orbifloxacina, ibafloxacina y sarafloxacina (Nakamura, 1995; Brown, 1996).

Otras, como la premafloxacina (Caputo y col., 1997; Watts y col., 1997), fleroxacina (Anton y col., 1997) y difloxacina (Van den Hoven, 1997) están siendo evaluadas, o ya han sido adoptadas terapéuticamente.

### III.3.2. Clasificación

Hay muchas maneras de clasificar a las quinolonas: por su estructura química, por la relación estructura-actividad, por su espectro antibacteriano y la extensión de su transformación metabólica, o por la eficacia clínica (Bryskier y Chantot, 1995; Andriole, 1999). Sobre la base de su estructura química las quinolonas pueden ser divididas en 4 grupos: compuestos monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos y tetracíclicos; y pueden ser clasificadas también en 4 grupos de acuerdo a su espectro antibacteriano y la extensión de su transformación metabólica (Fig. 2 y 3) (Bryskier y Chantot, 1995).

Teniendo en cuenta las distintas modificaciones de la estructura básica, y los consecuentes cambios en sus propiedades, se ha clasificado a las quinolonas en forma similar a las cefalosporinas, es decir, en generaciones. Así, tendríamos las quinolonas de 1ra, 2da., 3era. y aún 4ta. generación (Escribano y col., 1997, Andriole, 1999) (Tabla 3). Sin embargo, aunque algunos autores (Andriole, 1999) consideran prudente clasificar a las quinolonas en generaciones, otros (Bryskier y Chantot, 1995) consideran a esta clasificación confusa y sin sentido, principalmente por la gran diferencia en términos de actividad y espectro antibacteriano de los nuevos derivados con respecto a los antiguos.

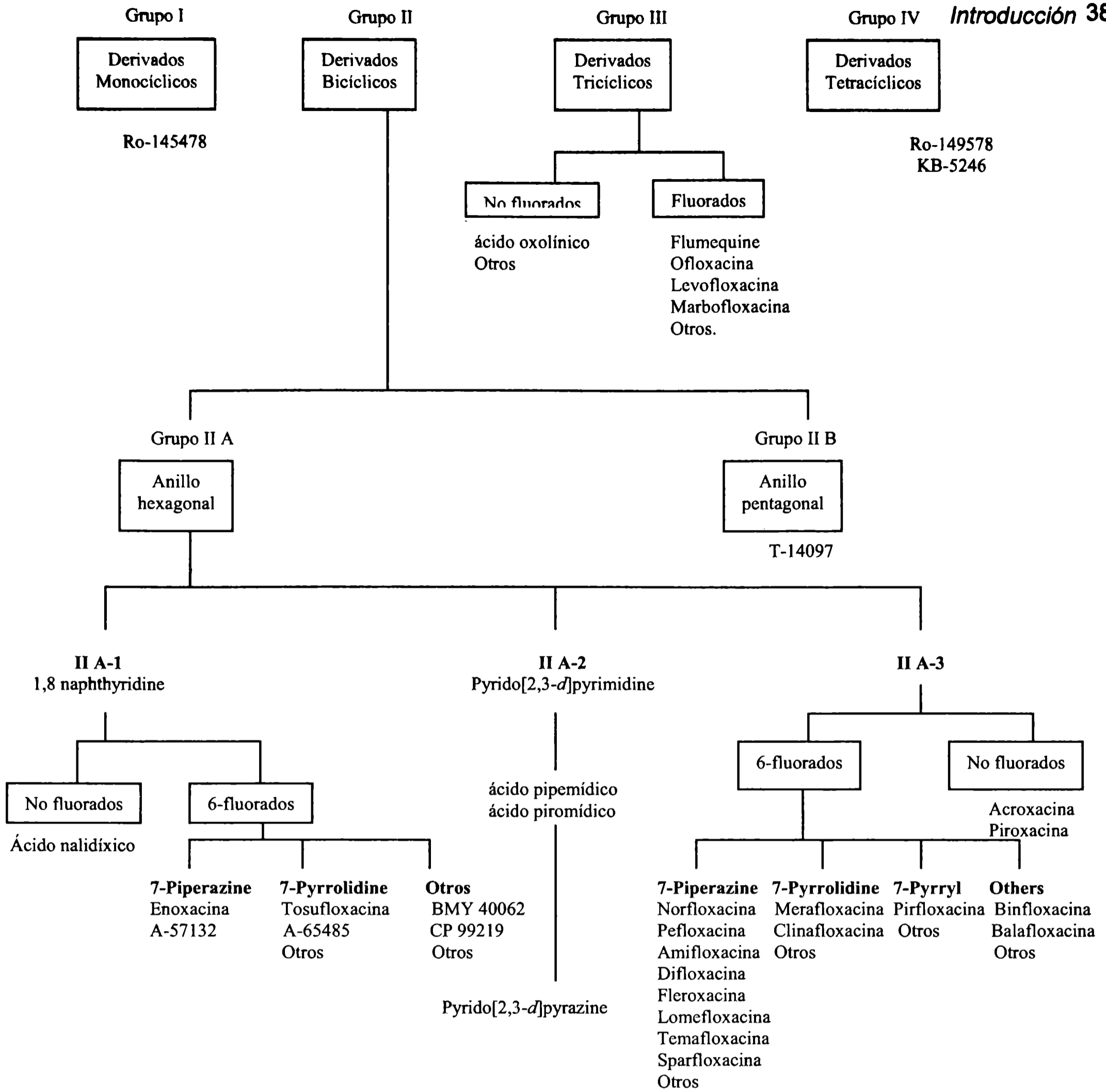


Figura 2. Clasificación química de los derivados quinolónicos (Bryskier y Chantot, 1995)

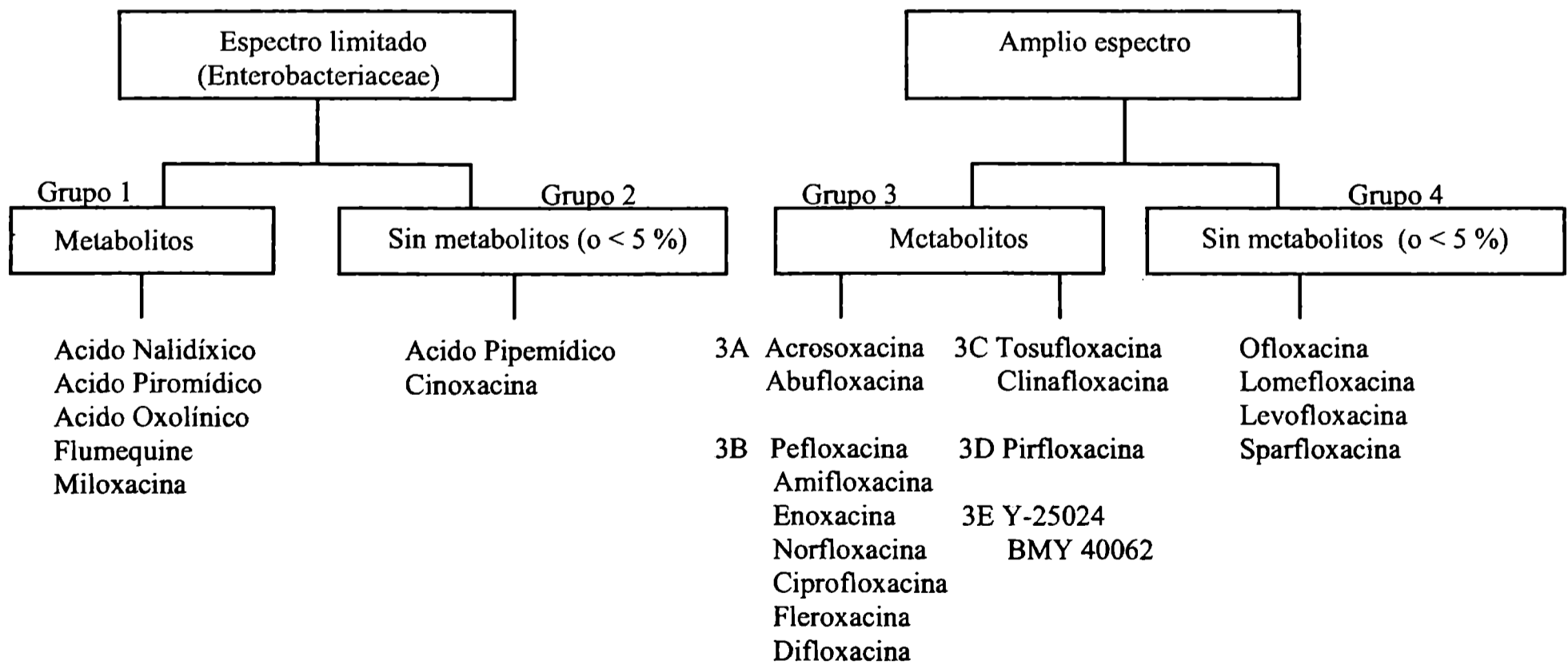


Figura 3: Clasificación Biológica de derivados quinolónicos (Bryskier y Chantot, 1995)

Tabla 3. Clasificación de las quinolonas

<b>1era. Generación</b>	Ac. Pipemídico, Ac. Piromídico, Ac. Nalidíxico, Ac. Oxolínico, Cinoxacina, Flumequine
<b>2da. Generación</b>	Norfloxacin, Ciprofloxacina, Ofloxacina, Enoxacin, Fleroxacin, Lomefloxacina, Levofloxacina etc.
<b>3era. Generación</b>	Tosufloxacina, Sparfloxacina, Gatifloxacina, Grepafloxacina, etc.
<b>4ta. Generación</b>	Trovafloxacina, Clinafloxacina, Moxifloxacina, Gemifloxacina, etc.

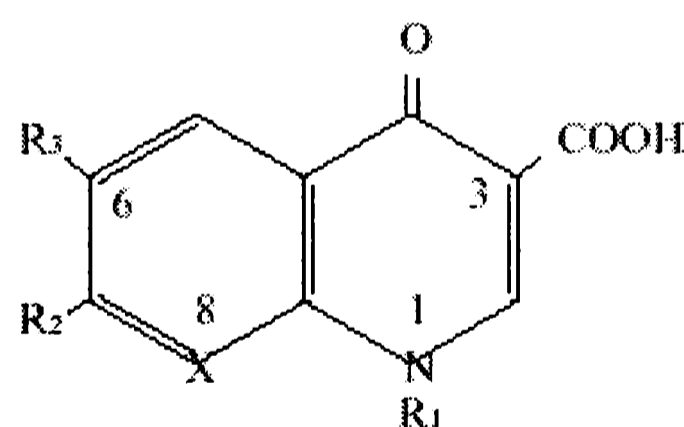
Tomado de Andriole, 1999.

### III.3.3. Estructura química

Los compuestos llamados genéricamente quinolonas tienen un núcleo químico básico denominado 4-quinolónico (Fig. 4). Hay dos tipos de estructuras de anillos, el núcleo naphthiridona, con un nitrógeno en las posiciones 1 y 8 (como el ácido nalidíxico), y el núcleo quinolona con un solo nitrógeno en la posición 1. Todos los compuestos, tanto quinolonas como naphthiridonas, contienen un oxígeno exocíclico y una cadena de ácido carboxílico, ambos imprescindibles para la actividad antimicrobiana (Appelbaum y Hunter, 2002).

Figura 4.  
Estructura básica  
de las quinolonas

(Appelbaum y Hunter,  
2002)



X=N: naphthyridone

X=CH: quinolone;

Nalidixic acid: R1=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;

R2=pyridyl

R3=H

R4=N

Para exhibir actividad antibacteriana es requerimiento mínimo que la estructura química tenga el doble enlace 2-3 no reducido y un grupo cetónico libre en posición 4. Además, la actividad antibacteriana de las 4-quinolonas depende también de la naturaleza de los sustituyentes periféricos y sus relaciones espaciales. Esos sustituyentes ejercen su influencia sobre la actividad antibacteriana



otorgando afinidad adicional por el sitio diana, aumentando la permeabilidad celular o alterando la farmacocinética (Fig. 5)(Bryskier y Chantot, 1995).

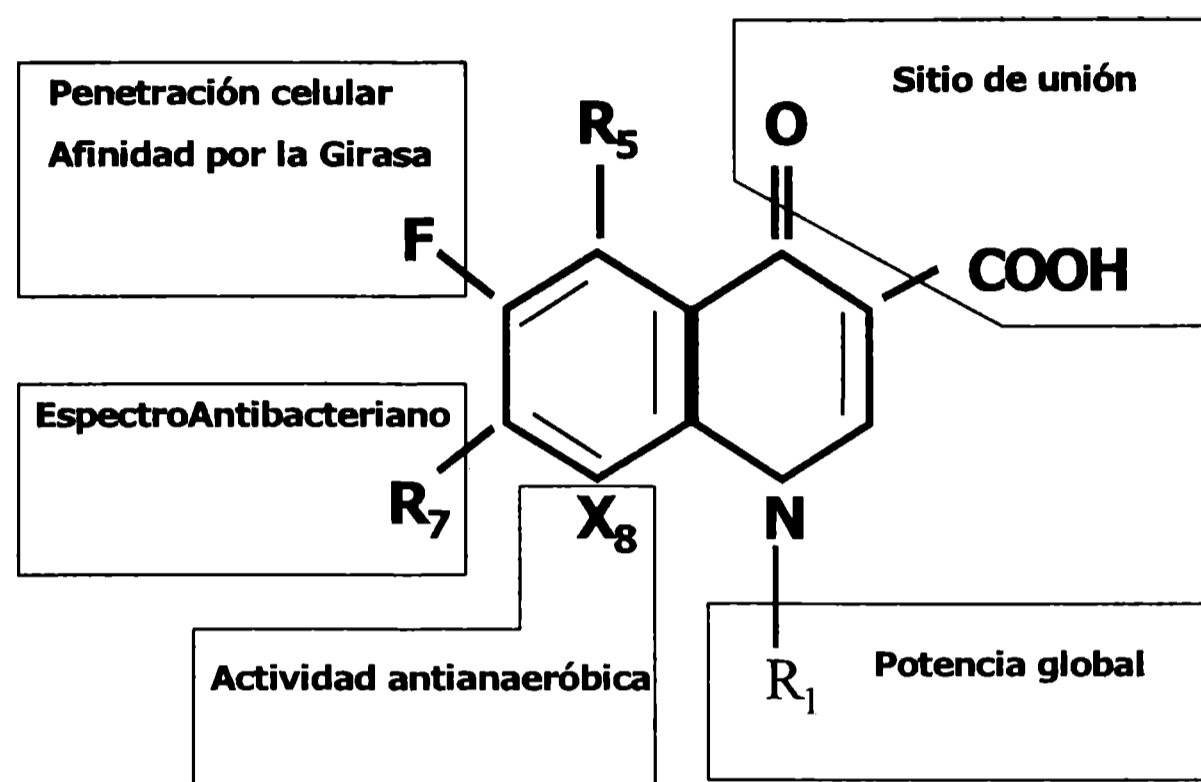


Figura 5. Sitios estructurales determinantes de la actividad antibacteriana de las fluorquinolonas

Se han realizado otras muchas manipulaciones de la molécula con la intención de mejorar sus efectos y propiedades, con resultados variables. Las sustituciones en una posición de la molécula a menudo trabajan en conjunción con sustituciones en otras posiciones, y los efectos no son siempre predecibles.

**Posición 1:** El anillo A es considerado responsable de los “efectos intrínsecos” de todos los análogos, y la mayoría de las sustituciones dentro de este anillo resultan de una pérdida de actividad (Goldstein, 1987). La cadena unida al nitrógeno de la posición 1 afecta marcadamente la potencia (Appelbaum y Hunter, 2000), principalmente por el volumen estérico del sustituyente, siendo los análogos N-1 etil generalmente más activos que los análogos N-1 alquil (Bryskier y Chantot, 1995). Los primeros compuestos tenían un grupo etilo en este sitio, pero recién con la introducción de grupos voluminosos a este nivel se logró un notable mejoramiento en la actividad contra microorganismos Gram-negativos y Gram-positivos (Appelbaum y Hunter, 2000). El grupo ideal aquí es el ciclopropilo, en función de sus características estéricas, espaciales y de interacción electrónica con el sitio diana

(Chu y Fernandez, 1989; Sumano López, 1993). La mayoría de los compuestos exitosos tienen un grupo ciclopropil como cadena lateral en esta posición, incluyendo ciprofloxacina, sparfloxacina, grepafloxacina, clinafloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina y gemifloxacina (Appelbaum y Hunter, 2000).

No obstante, puede aumentarse su eficacia contra anaerobios con un grupo N-1-fluorofenilo, aunque al precio de perder algo de potencia contra el resto del espectro (Sumano López, 1993). Un grupo 2,4-difluorofenilo (temafloxacina, tosufloxacina y trovafloxacina) ha aumentado la actividad contra Gram-positivos (Appelbaum y Hunter, 2000).

Además del volumen estérico, otros factores como la donación de electrones y el efecto espacial ideal pueden tener gran influencia sobre las propiedades biológicas (Chu y Fernandez, 1989; Bryskier y Chantot, 1995).

**Posición 2:** Esta posición (H) permanece sin sustituyentes debido a su proximidad con el sitio de unión con la enzima diana (Bryskier y Chantot, 1995; Appelbaum y Hunter, 2000).

**Posiciones 3 y 4:** No se han podido modificar los grupos carboxílicos y cetona presentes en estas posiciones, ya que son necesarios para su acción sobre el sitio diana, y por lo tanto para su actividad antimicrobiana (Goldstein, 1987; Sumano López, 1993; Bryskier y Chantot, 1995; Appelbaum y Hunter, 2000). El reemplazo del grupo 3-carboxílico por grupos ácidos tales como sulfónico, acético, hidroxámico, sulfamídico y fosfórico resultaron en una sustancial disminución de la actividad antibacteriana, y el reemplazo del grupo 4-cetónico con otros grupos ha conducido a la obtención de compuestos inactivos (Chu y Fernandez, 1989).

**Posición 5:** Las modificaciones sobre esta posición no parecen mejorar la eficacia antibacteriana (Goldstein, 1987). Se han intentado sustituciones en esta posición con grupos N, NH<sub>2</sub>, halo y alquilo, sin que se hayan logrado resultados importantes (Sumano López, 1993), e incluso pueden disminuir la actividad probablemente como consecuencia de interferencias con los sitios activos en las posiciones 3 y 4. Sin embargo, sustituciones a este nivel pueden mejorar la actividad contra microorganismos Gram-positivos, aunque fuertemente influenciados por las sustituciones en

las otras posiciones. Las sustituciones con CH<sub>3</sub> (grepafloxacina) y NH<sub>2</sub> (sparfloxacina) mejoran la actividad contra Gram-positivos (Appelbaum y Hunter, 2000).

**Posición 6:** De las sustituciones a este nivel con H, F, Cl, Br, CH<sub>3</sub>, SCH<sub>3</sub>, COCH<sub>3</sub>, CN y NO<sub>2</sub>, la adición de un átomo de Flúor resultó en un muy significativo incremento de la potencia antibacteriana (Fig.6). Con esta sustitución aumentó 2 a 17 veces la inhibición del sitio diana -la girasa bacteriana- y hasta 70 veces la penetración celular (Chu y Fernandez, 1989). Además, se aumentó la eficacia contra patógenos Gram-negativos y se amplió el espectro de actividad hacia los Gram-positivos (Brown, 1996; Appelbaum y Hunter, 2000). Todas las fluoroquinolonas de mayor potencia y utilidad clínica tienen Flúor en la posición 6 (Sumano López, 1993).

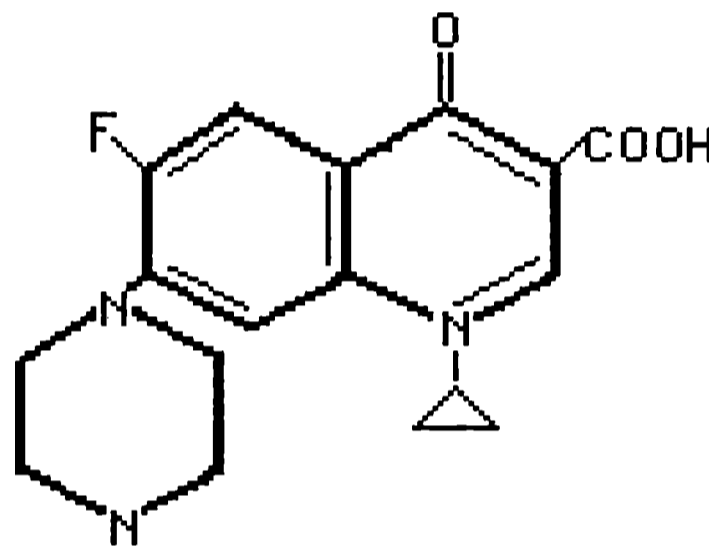


Figura 6: Ciprofloxacina

(Clorhidrato del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7  
(1-piperazinil)-3 -quinolona-carboxílico)  
Andriole, 1991)

**Posición 7:** Es con sustituciones en esta posición cuando pueden observarse los mayores cambios en potencia. Un sustituyente en este sitio interactúa con el sitio diana y mejora la actividad antibacteriana (Bryskier y Chantot, 1995; Appelbaum y Hunter, 2000). Se cree que la permeabilidad de la célula bacteriana es predominantemente controlada por la naturaleza del sustituyente C-7 (Chu y Fernandez, 1989; Bryskier y Chantot, 1995). La afinidad por la ADN girasa (sitio diana) aumenta de manera directamente proporcional con el volumen del sustituyente. Esto es, moléculas lineales muestran menos potencia que los radicales cíclicos, (Sumano López, 1993). La adición de un grupo piperazínico proporciona una mejor actividad contra Gram-negativos, aumentando el espectro hacia *Pseudomonas* spp., e incrementa la penetración celular aumentando así la actividad (Andriole, 1999;

Appelbaum y Hunter, 2000). Además se modifican algunos parámetros farmacocinéticos. Los compuestos con un sustituyente 4-metil-piperazin (difloxacin, pefloxacin) son bien absorbidos y alcanzan altos niveles plasmáticos con largas vidas medias (Chu y Fernandez, 1989). La adición de una cadena alquil sobre la posición "para" del anillo piperazinil incrementa la solubilidad en los lípidos y el volumen de distribución (Vancutsem y col,1990). Un grupo amino-pirrolidina generalmente confiere buena actividad contra Gram-positivos. Los sustituyentes más comunes a este nivel son piperazin (norfloxacina, ciprofloxacina y enoxacina), 4-metil-piperazin (pefloxacina, ofloxacina, difloxacina, fleroxacin y amifloxacina), 3-aminopirrolidín (tosufloxacina, clinafloxacina), 3-metilpiperazín (lomefloxacina y temafloxacina), 3,5-dimetilpiperazín (sparfloxacina), 3-amino-4-metil (gatifloxacina), 3-amino-4ciclohexil (sitafloxacina) (Chu y Fernandez, 1989; Appelbaum y Hunter, 2000).

**Posición 8:** Las sustituciones en esta posición afectan las propiedades *in vivo* y la actividad antibacteriana, particularmente contra anaerobios (Appelbaum y Hunter, 2000).

Los sustituyentes más favorables a este nivel son los halogenados, C-8-flúor y C-8-cloro, con mayor actividad *in-vivo*, debido a su mejor absorción y mayor vida media (Chu y Fernandez, 1989; Andriole, 1999; Appelbaum y Hunter, 2000), y en combinación con el sustituyente N-1-ciclopropil incrementan la actividad contra varias especies bacterianas (Andriole, 1999). Los sustituyentes C-8-metoxi y C-8-bromo mejoran la actividad de las fluoroquinolonas contra mycobacterias, particularmente con las moderadamente resistentes (Dong y col.,1998). La sustitución con un radical "N" (tosufloxacina) u "O" (ofloxacina), ha mejorado los rasgos farmacocinéticos, aunque no tanto los antimicrobianos, de modo que la pérdida de la actividad *in vitro* se sustituye con un mejor perfil *in vivo* (Sumano López, 1993). Una característica de las 8-cloroquinolonas es su fototoxicidad y poca estabilidad ante la luz ultravioleta. También se ha asociado fototoxicidad a las quinolonas 8-fluoradas como sparfloxacina, fleroxacin y lomefloxacina, que han sido retiradas del mercado o utilizadas con restricciones. Por otra parte, un grupo metoxi a este nivel (moxifloxacina, gatifloxacina) confiere buena actividad contra anaerobios sin riesgos de fototoxicidad (Appelbaum y Hunter, 2000).

No se ha demostrado que se logre una mayor eficacia añadiendo más flúor a diversas partes de la molécula de las quinolonas (Sumano López, 1993).

Las investigaciones realizadas en los últimos años sobre la estructura-actividad de las fluoroquinolonas han sido conducidas a lograr (Appelbaum y Hunter, 2000):

- mayor actividad contra cocos Gram-positivos, especialmente neumococos, incluyendo cepas resistentes a los betalactámicos y macrólidos;
- mayor actividad contra Estafilococos, particularmente meticilino resistentes (MRSA);
- actividad mejorada contra anaerobios;
- actividad contra cepas resistentes a la ciprofloxacina y a la ofloxacina, incluyendo Estafilococos y Enterobacterias;
- mejor actividad contra Gram-negativos, incluyendo especies de *Pseudomonas* y otras bacterias no fermentadoras;
- baja tasa de resistencia.

Como propiedades químicas salientes de las quinolonas podemos citar:

- a) estos agentes antibacterianos son anfóteros y considerados zwitteriónicos, debido a la presencia de un ácido carboxílico y uno o más grupos funcionales amino (Brown, 1996);
- b) su solubilidad en los lípidos es baja, excepto entre pH 6 y pH 8 (Vancutsem y col., 1990);
- c) la solubilidad en agua a pH fisiológico varía entre los compuestos, dependiendo de las sustituciones del anillo quinolónico (Brown, 1996). A veces la solubilidad en el agua es baja y tienden a precipitar bajo condiciones más ácidas (Vancutsem y col., 1990). Sin embargo, las formas salinas de las fluoroquinolonas son rápidamente solubles y generalmente estables en soluciones acuosas (Brown, 1996);

#### III.3.3.1. Propiedades físico-químicas de la enrofloxacin

La enrofloxacin [1-ciclopropyl-7-[-4-ethyl-1-piperaziny]-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolone carboxylic acid] es una sustancia cristalina de color amarillo pálido poco soluble a pH 7 (Fig. 7). Sin embargo, debido a su característica anfótera, es soluble a valores de pH ácidos y alcalinos (Fig. 8) (Altreuther, 1987; Lizondo y col., 1997).

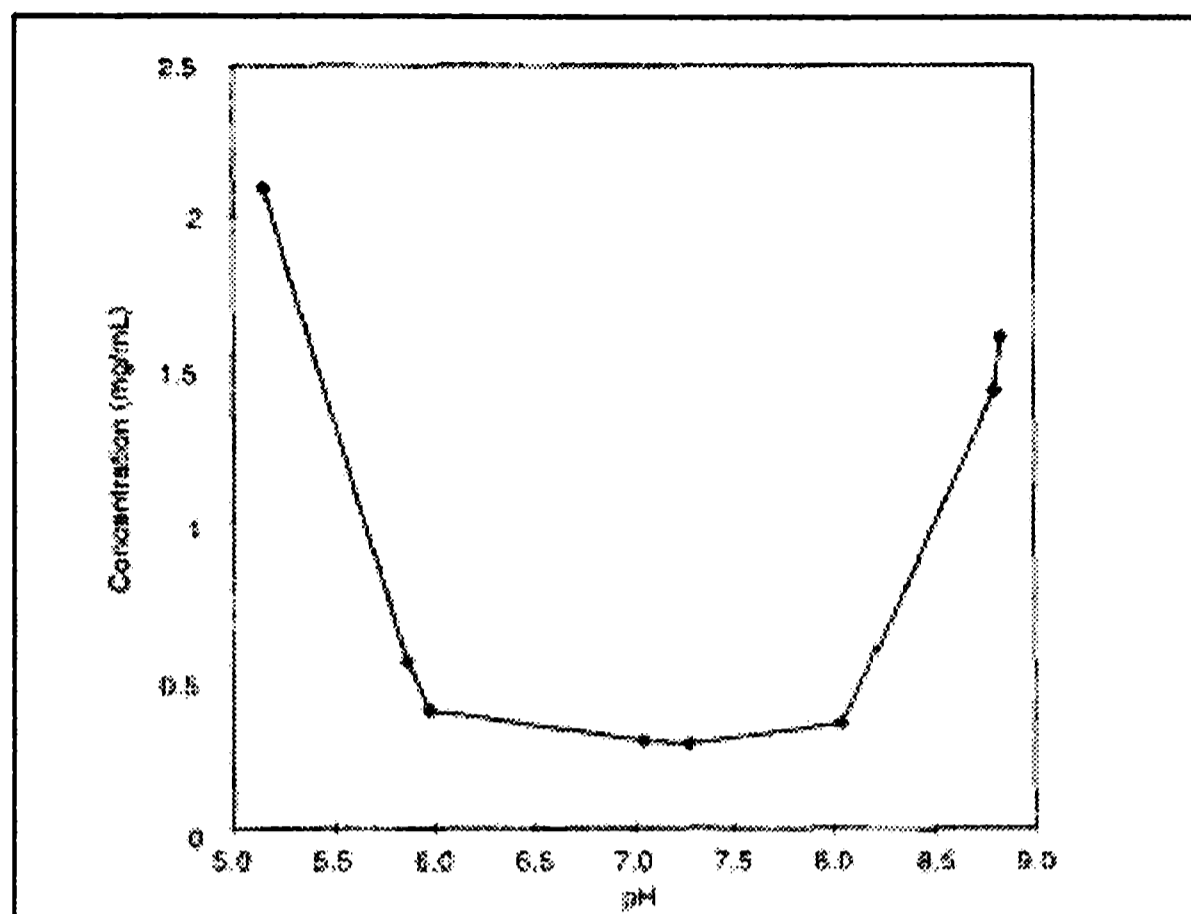


Figura 8  
solubilidad de la enrofloxacin  
según el pH  
(tomado de Lizondo y col., 1997)

La enrofloxacin (Fig. 9) posee los 2 sustituyentes nombrados, el anillo piperazinil en posición 1, y el Flúor en posición 6. Pero además tiene un anillo 4-metilo-piperazin-1-il en la posición 7, el cual –por lo voluminoso del sustituyente- le confiere mayor potencia con respecto a aquellas quinolonas con moléculas lineales en esta posición. Por otra parte, la presencia de un etilo en la posición 4 de este anillo parece lograr que la enrofloxacin alcance el doble de la concentración plasmática que la ciprofloxacina, que tiene una estructura similar pero no lo posee (Sumano López, 1993)

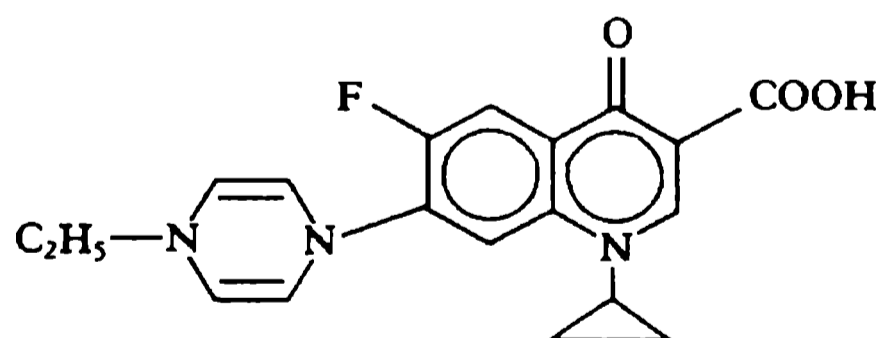


Figura 9: Enrofloxacin

(1-ciclopropyl-7-[4-ethyl-1-piperazinyl]-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolone carboxylic acid)  
(Bywater, R.J., 1991)

La enrofloxacin tiene un bajo peso molecular, lo cual favorece su penetración a los tejidos. En su punto isoeléctrico alcanza su menor hidrosolubilidad y la mayor lipofilia (Dorfman, 1995).

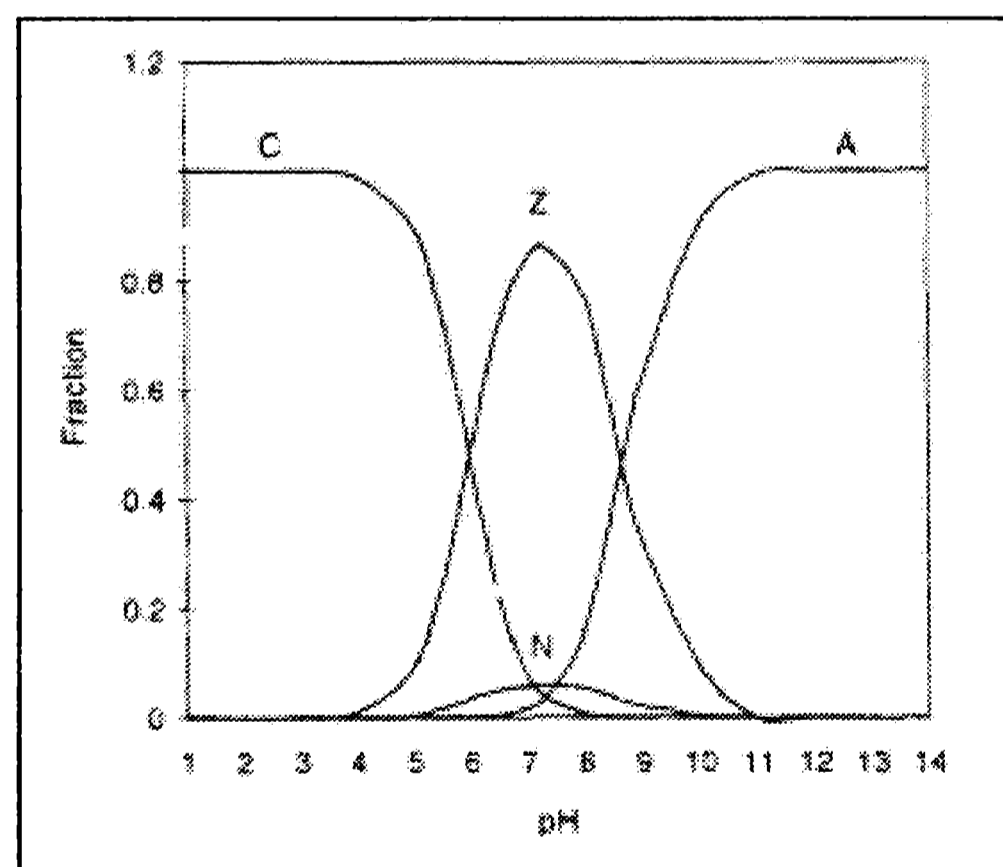
Las principales características químicas se resumen en la Tabla 4

Tabla 4. Características químicas de la enrofloxacin

Peso molecular	360.15
PKa1	$6.26 \pm 0.03^{(1)}$ , $5.94 \pm 0.09^{(2)}$
PKa2	$7.81 \pm 0.03^{(1)}$ , $8.70 \pm 0.44^{(2)}$
Coeficiente de partición	$2.370 \pm 0.421^{(1)}$
Solubilidad intrínseca a 37 °C	$0.416 \pm 0.02^{(1)}$
Máxima Solubilidad a 25 °C	$10.42 \pm 0.96$ mg/ml a pH 5.02 <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Escribano y col., 1997. <sup>(2)</sup>Lizondo y col., 1997

A fines de determinar las condiciones analíticas, es necesario destacar que la enrofloxacin, dependiendo del pH, puede existir en 4 formas posibles: (a) catión ácido, (b) no ionizada neutra, (c) zwitterion, y (d) ión básico (Fig. 10). A bajo pH están protonados los grupos 7-piperazinil y 3-carboxil,



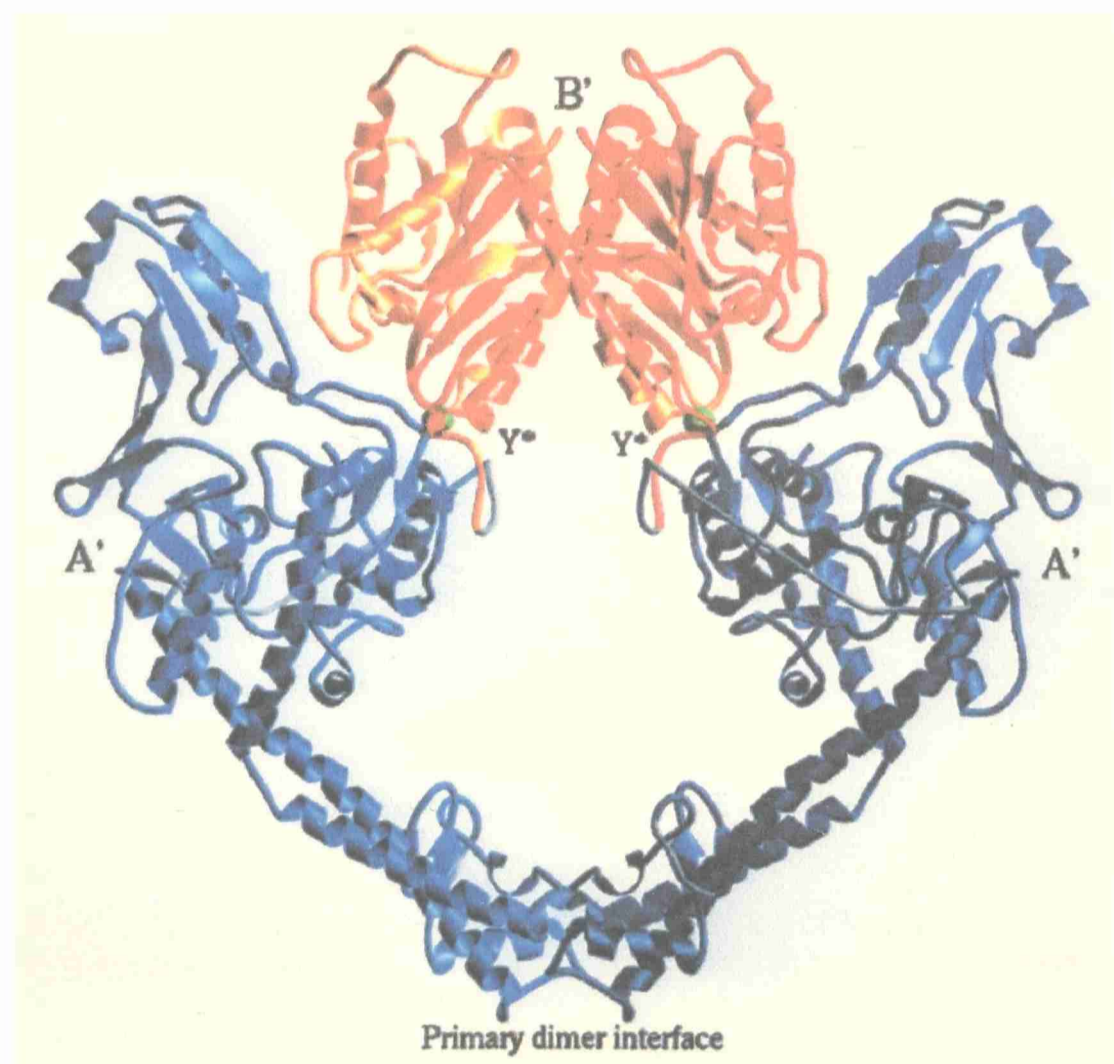
mientras que a pH alto no lo está ninguno de los dos (Lizondo y col., 1997).

Figura 10. Distribución de las fracciones de enrofloxacin según el pH: catión (c), neutro (n), zwitterion (z) y anión (a).  
(tomado de Lizondo y col., 1997)

### III.4. Mecanismo de acción de las quinolonas

Las quinolonas son agentes antibacterianos que tienen como sitios diana a dos enzimas bacterianas esenciales, ambas pertenecientes al grupo de las Topoisomerasas tipo II: la ADN girasa y la ADN Topoisomerasa IV (Lewis y col.,1996; Drlica y Zhao,1997; Mariani y Hiasa,1997; Anderson y col.,1998, Levine y col.,1998).

Las topoisomerasas del tipo II (Fig. 11) catalizan la relajación y superenrollamiento del ADN, el encadenamiento y desencadenamiento de los anillos de ADN, y el anudado y desanudado del ADN doble. De este modo, desempeñan un rol crítico en la replicación, recombinación y transcripción del ADN, así como en el mantenimiento de la densidad genómica superhelicoidal (Lewis y col.,1996; Anderson y col.,1998; Levine y col.,1998). La **ADN girasa** es la única enzima capaz de introducir un superenrollamiento helicoidal negativo dentro de la molécula de ADN (Levine y col., 1998). Esta enzima, descubierta en 1976, es un  $A_2B_2$  tetrámero, que contiene 2 subunidades A y dos subunidades B. Las subunidades A están codificadas por el gen *gyrA*, y las subunidades B por el gen *gyrB*. El gen *gyrA* codifica para una proteína *gyrA* de 97-kDa (875 aminoácidos), y el gen *gyrB* lo hace para una proteína *gyrB* de 89.9-kDa y 804 aa. (Lewis y col, 1996, Levine y col., 1998).



Courtesy of James Berger, Stephen Harrison, and James Wang, Harvard University

Figura 11. Topoisomerasa tipo II



La topoisomerasa IV, un homólogo de la ADN girasa, está compuesta también de 2 pares de subunidades, codificados por los genes *parC* y *parE*, respectivamente. El gen *parC* codifica para una proteína *parC* de 83.7-kDa (752 aa), mientras que el gen *parE* lo hace para una proteína *parE* de 70.2-kDa (630 aa). Las subunidades *parC* y *parE* tienen una alta homología con las subunidades *gyrA* y *gyrB*, respectivamente. La topoisomerasa IV es una enzima esencial en la segregación cromosómica de las células procariotas, cuya principal función es la separación de los cromosomas hijos entrelazados luego de la replicación del ADN (Drlica y Zhao y col., 1997; Mariani y Hiasa, 1997; Anderson y col, 1998; Levine y col., 1998) Aunque la girasa y la topoisomerasa IV comparten un 36-40 % de homología en la secuencia de aminoácidos, difieren marcadamente en sus reacciones principales. Mientras que la girasa cataliza las reacciones de pasajes intramoleculares de hebras de ADN, tales como el superenrollamiento, la topoisomerasa IV interviene en las reacciones de pasajes intermoleculares de hebras de ADN, tal como la decatenación (Levine y col., 1998).

La unión específica de las quinolonas requiere tanto ADN como topoisomerasa, por lo tanto es el complejo enzima-ADN el sitio diana de estas drogas. Varias evidencias indican que la interacción de la quinolona con el complejo topoisomerasa-ADN (Fig. 12) afecta tanto a la estructura de la enzima como del ADN (Hooper, 1999).

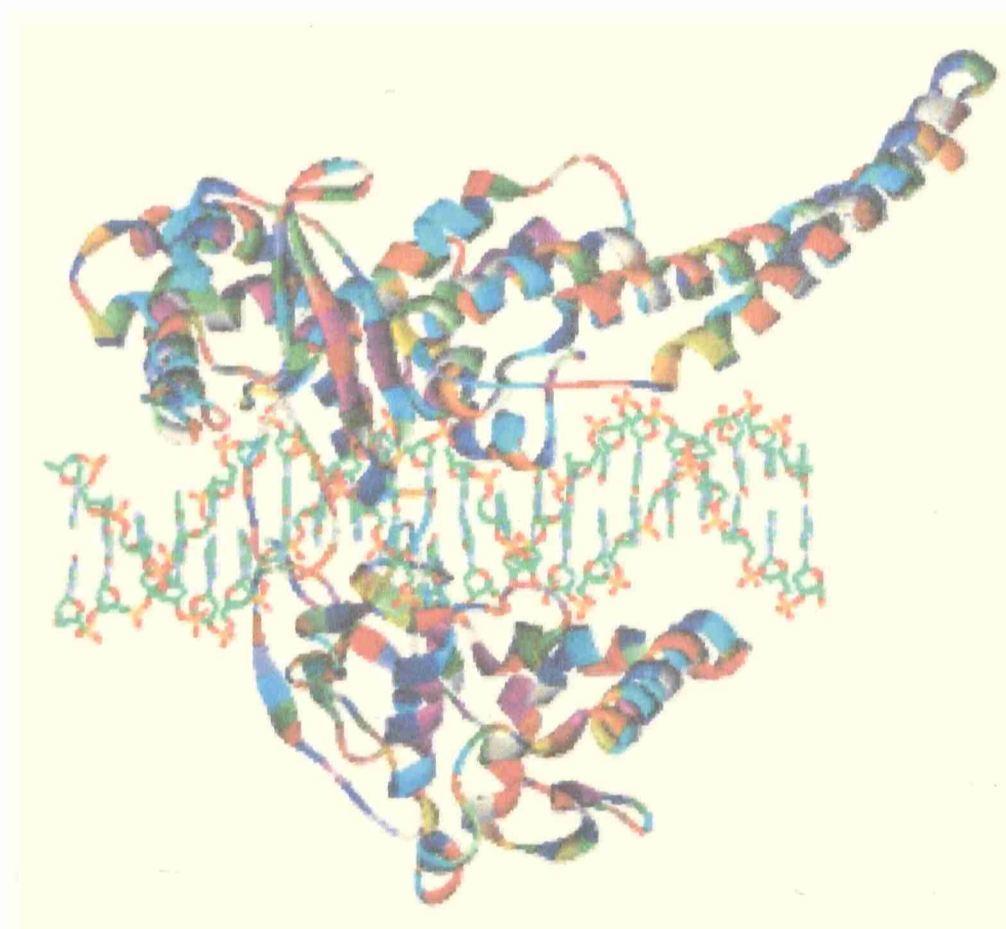


Figura 12. Complejo ADN-Topoisomerasa

Uno de los primeros modelos que se han propuesto para explicar el mecanismo de acción de las quinolonas postula que estas drogas interfieren en la reacción de recombinación del ADN luego del clivaje necesario para su replicación, impidiendo además el resellado de la hendidura. Las quinolonas se unirían al complejo formado entre la girasa y el ADN sobre cada una de las dos hebras en que éste último se separa en el momento de la replicación. El complejo formado por el ADN, la girasa y la quinolona sería muy estable, e impediría que los extremos separados del ADN vuelvan a unirse (Shen y col., 1989). Otro modelo (Drlica y Zhao, 1997) postula un esquema centrado en la formación reversible de complejos entre la quinolona, el ADN, y la ADN girasa o la topoisomerasa IV. El complejo, que contiene ADN fragmentado, bloquea la replicación del ADN y el crecimiento bacteriano sin matar a la célula. La muerte bacteriana se originaría en la subsecuente liberación de extremos de ADN.

Sin embargo, últimos ensayos sugieren que las quinolonas actuarían antes de iniciarse la separación de las cadenas de ADN, y no después, aumentando la tasa de clivaje inducido por la enzima, sin afectar la tasa de recombinación (Marians y Hiasa, 1997). Las quinolonas actuarían acelerando la tasa de clivaje del ADN mediante la adquisición de perturbaciones estructurales en el sitio de unión con el complejo ternario ADN-enzima-quinolona (Levine y col., 1998). Otros autores señalan que la prolífica actividad de clivaje es debida tanto al aumento en la tasa de clivaje como a una disminución en la tasa de recombinación de ADN (Anderson y col., 1998). Todo esto desplazaría el equilibrio clivaje-recombinación, necesario para la correcta acción enzimática, hacia el primer término (Marians y Hiasa, 1997). Además, las quinolonas incrementan significativamente los niveles de complejos covalentes enzima-ADN clivado. El efecto neto sería que, en presencia de la droga, la topoisomerasa pasa considerablemente más tiempo unido en forma covalente al ADN, aumentando significativamente la probabilidad de la generación de hendiduras en el ADN, con el probable efecto citotóxico (Marians y Hiasa, 1997; Anderson y col., 1998). Finalmente, las quinolonas inhibirían la actividad catalítica global de las enzimas del tipo II (Anderson y col., 1998).

Kampranis y Maxwell (1998) demostró que la unión de la quinolona y el clivaje del ADN inducido por la droga son dos procesos separados que constituyen dos etapas secuenciales en el mecanismo de estas drogas. La unión de la quinolona es seguida de un cambio conformacional en el complejo ADN-girasa que es responsable de la inhibición de la enzima. Esa unión de la quinolona es

una reacción rápida, mientras que el subsecuente clivaje del ADN es un proceso lento. De modo que el clivaje del ADN inducido por la droga sería una reacción más lenta que la que ocurre normalmente, asociada con una fase de recombinación aún más lenta todavía. Levine y col. (1998) concuerdan en que las quinolonas afectan el equilibrio clivaje-religación, atrapando efectivamente la enzima en el complejo ternario droga-ADN-enzima durante la reacción de topoisomerización.

Marians y Hiasa, (1997) y Kampranis y Maxwell (1998) coinciden en que el clivaje del ADN es el resultado de la unión de la quinolona, y no un prerrequisito para esa unión. De modo que las quinolonas parecen estabilizar la unión del ADN a la topoisomerasa y promover cambios conformacionales en la enzima antes del clivaje, sin ser un requerimiento para éste último (Hooper, 1999).

La desnaturalización final de la enzima resulta en la generación de doble hebras rotas de ADN. Sin embargo, aunque la formación de los complejos ternarios es crítica para el efecto citotóxico, estos complejos son reversibles, y las hebras de ADN roto pueden ser religadas. La lesión debe ser fijada de alguna manera que resulte en la disrupción del complejo para generar el efecto citotóxico mediante la ruptura del ADN en hebras dobles. El responsable del proceso disruptivo sería la horquilla de replicación (Marians y Hiasa, 1997; Levine y col., 1998). Tanto para la girasa como para la topoisomerasa IV, las fluoroquinolonas parecen atrapar la enzima en el ADN durante la reacción de topoisomerización, formando una barrera física al movimiento de la horquilla de replicación, la ARN polimerasa y la ADN helicasa. La colisión de la horquilla de replicación con el complejo ternario ADN-enzima-quinolona convertirían a éste en irreversible, generaría ruptura de hebras doble de ADN, y dispararía otros eventos poco definidos dentro de la célula que resultan en la muerte celular (Marians y Hiasa, 1997; Levine y col., 1998; Hooper, 2001). Los intentos para sortear o reparar las lesiones al ADN produciría la inducción del sistema SOS, así como varias otras vías que conducen a rupturas de doble hebra y muerte celular. Las quinolonas son potentes inductores del sistema SOS. Esto convierte a las quinolonas en un arma de doble filo: su citotoxicidad las hace potentes antimicrobianos, pero a través de sus efectos mutagénicos aceleran la aparición de resistencia a su propia acción (Couturier y col., 1998).

Varios autores han sugerido que en los organismos Gram-negativos la ADN girasa es el sitio diana primaria, mientras que la Topoisomerasa IV lo es para los Gram-positivos, pero en general la enzima más sensible es afectada en primer lugar (Brighty y Gootz, 1997; Drlica y Zhao, 1997; Fournier y Hooper, 1998; Levine y col., 1998; Hooper, 2001; Hooper, 2002).

La topoisomerasa IV podría ser un sitio diana para las fluoroquinolonas en *Escherichia coli*, aunque en forma secundaria a la girasa (Levine y col., 1998). Se especuló que durante la replicación cromosómica en *Escherichia coli* la girasa actúa delante de la horquilla de replicación, mientras que la topoisomerasa IV lo hace por detrás de la horquilla. De modo que sería la colisión entre la horquilla y el complejo ADN-girasa-quinolona la responsable de los efectos letales, que impiden la replicación, y probablemente generen las rupturas de doble hebra en el cromosoma. Esto ofrece una posible explicación al hecho de que la girasa es el principal sitio diana para las quinolonas en *E. coli* (Levine y col., 1998).

Existen algunos aspectos de la acción de las quinolonas que no pueden explicarse con esquemas simples. Una de las observaciones más enigmáticas es la inhabilidad de altas concentraciones de estas drogas para matar bacterias tan eficazmente como lo hacen concentraciones moderadas (Drlica y Zhao, 1997). Este efecto paradójico ha sido observado con una variedad de especies bacterianas y para muchas quinolonas, y podría deberse a la inhibición de la síntesis de ARN, la cual parece ser necesaria para el efecto bactericida (Dudley, 1991; Drlica y Zhao, 1997; Hooper, 1999). Sin embargo, la inhibición del RNA y de la síntesis proteica no es una explicación satisfactoria para el comportamiento de algunas fluoroquinolonas como la ciprofloxacina, la cual a altas concentraciones mata bacterias predominantemente de un modo que no es bloqueado por la inhibición de la síntesis proteica. Así, la pérdida de letalidad a altas concentraciones permanece inexplicada (Drlica y Zhao, 1997), aunque algunos autores (Gould y col., 1990) no han observado este efecto paradójico a concentraciones de hasta 200 veces la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM). Este fenómeno podría estar relacionado con los distintos tipos de mecanismos de acción. Se considera que todas las quinolonas tienen el mismo mecanismo básico de acción, llamado mecanismo A, que requiere RNA y síntesis de proteínas, así como división celular, para ejercer acción bactericida. Sin embargo, algunas nuevas quinolonas exhiben otro mecanismo B, capaz de matar bacterias que no se están dividiendo, y en ausencia de síntesis de RNA o proteínas. Y unas

pocas quinolonas mantienen actividad bactericida en ausencia de multiplicación celular, pero requieren síntesis activa de proteínas y RNA. Este es el llamado mecanismo C. El tipo de mecanismo de acción puede depender del microorganismo en cuestión. La ciprofloxacina, por ejemplo, muestra los mecanismos A y B contra *E. coli*, pero solamente el A frente a *S. aureus* (Brighty y Gootz, 1997).

En síntesis, se sabe que las bacterias contienen dos topoisomerasas que son diana de las fluoroquinolonas. En algunas especies, tales como *E. coli* y *N. gonorrhoeae* la diana principal es la ADN-girasa, mientras que en otras como *S. aureus* y *S. pneumoniae* lo es la Topoisomerasa IV. Considerando que estas enzimas tienen funciones algo distintas, es probable que las bacterias difieran en sus respuestas a las quinolonas de acuerdo a cual enzima sea la principal diana (Drlica y Zhao, 1997). Así, la enzima más sensible generalmente establece cual es el sitio diana primario para un microorganismo, y la interacción de la quinolona con el sitio diana primario es la que determina la susceptibilidad de la célula, independientemente de la sensibilidad del sitio diana secundario (Hooper, 1999). Sin embargo, ambas enzimas deben estar mutadas para obtener un alto grado de resistencia a las fluoroquinolonas, indicando que ambas enzimas son sitios dianas en todas las bacterias (Levine y col., 1998), e incluso algunas quinolonas parecen afectar ambas enzimas en igual grado (Hooper, 1999). La existencia de dos sitios diana distintos tiene importantes implicancias para el desarrollo de resistencia (Hooper, 1999).

Debe destacarse que las topoisomerasas se encuentran también en organismos eucariotas, desde levaduras a seres humanos. La topoisomerasa tipo II eucariota difiere estructuralmente de la bacteriana en que es un homodímero de cadena simple de polipéptidos, y si bien hace cortes al ADN, no produce superenrollamiento negativo (Hooper, 1987; Lewis y col., 1996). Aún así, se ha demostrado que esta topoisomerasa eucariota tiene una secuencia parcial de aminoácidos homóloga a la enzima bacteriana, que podría representar un sitio de acción para las quinolonas (Hooper, 1987). Inicialmente se pensaba que las quinolonas eran incapaces de inducir daño genético en células de mamíferos, debido a que la afinidad de estas drogas por la topoisomerasa tipo II de los mamíferos es mucho menor que por la girasa bacteriana (Wolfson y Hooper, 1985). Sin embargo, estudios recientes han producido evidencias de una posible genotoxicidad de las quinolonas sobre sistemas eucariotas (Gorla y col., 1999; Takayama y col., 1995).

### III.5. Actividad antimicrobiana de las quinolonas

El uso racional de las drogas antimicrobianas debe basarse en el conocimiento de las relaciones existentes entre las características estructurales y bioquímicas de las bacterias y las propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas de la droga. Esto hace necesario considerar la manera en que estas drogas actúan para matar o inhibir el desarrollo de los microorganismos, y la extensión en la cual la droga es capaz de penetrar en los tejidos *in vivo* (AliAbadi y Lees,2000).

La eficacia de una droga antimicrobiana para tratar enfermedades infecciosas en cualquier animal tiene dos requerimientos básicos para garantizar el éxito terapéutico. Primero, la concentración de la droga en el ambiente que rodea inmediatamente al microorganismo debe ser igual a la concentración bactericida mínima, o exceder la concentración inhibitoria mínima (CIM). En el caso de las fluoroquinolonas, al tratarse de drogas con actividad antimicrobiana dependiente de la concentración, se requieren altas concentraciones en plasma y tejido, y el éxito del tratamiento se correlaciona con el área bajo la curva inhibitoria o AUC (area under inhibitory curve), mientras que la prevención del desarrollo de resistencia se correlaciona con una alta tasa entre la máxima concentración plasmática y la concentración inhibitoria mínima ( $C_{max}/CIM$ ). Deberían obtenerse relaciones  $C_{max}/CIM$  de 8 o más, y AUC mayores de 100, y aún de 250 en algunos casos. Sin embargo, es menos importante para el éxito terapéutico mantener una CIM alta en el tiempo ( $T > CIM$ ) (Aliabadi y Lees,1997a; Aliabadi y Lees,2000).

Las drogas antimicrobianas que actúan preferentemente por un mecanismo dependiente de la concentración, generalmente continúan inhibiendo el desarrollo de los microorganismos por un período de horas luego de haber sido removidas completamente del sistema. Esta supresión persistente del crecimiento bacteriano que sigue a la exposición al antimicrobiano es conocida como efecto post-antibiótico (EPA), y es uno de los parámetros más relevantes con respecto a la optimización del régimen de dosificación (AliAbadi y Lees,2000; Lees y AliAbadi,2002; Li,2000). Teóricamente, el EPA ofrece un buen argumento para extender el intervalo entre dosis (Li, 2000). Se ha observado efecto post-antibiótico de 4 a 8 horas en varias cepas, incluyendo *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* (Brown, 1996). Ciprofloxacina y norfloxacina inducen EPA de 1.8 a 2.4 horas en *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*; marbofloxacina ha demostrado efecto post-antibiótico de 2 a 3 horas contra *S. intermedius*, y enrofloxacin un efecto similar de 1 a 4 horas de duración (según

dosis y microorganismo) contra *S. intermedius*, *P. multocida*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* y *S. aureus* (Spreng y col.,1995; McKellar,1996; Wetzstein y de Jong,1996). Aún a concentraciones por debajo de la CIM, las fluorquinolonas reducen la tasa de crecimiento bacteriano, inhiben la división celular, inducen cambios en la ultraestructura de la superficie bacteriana que previene la colonización de tejidos específicos, interfieren en la expresión de factores de virulencia, y aumentan la susceptibilidad de algunos microorganismos a la fagocitosis. Además, durante la fase post-antibiótica podrían deprimirse algunos de los mecanismos de resistencia bacteriana (Wetzstein y de Jong,1996).

Con la excepción de la CIM para anaerobios, la CIM de las fluorquinolonas para las bacterias tiende a ser poco afectada por el tamaño del inóculo, el tipo de medio o la presencia de suero (Neer,1988). Sin embargo, el pH del medio puede modificar la actividad de las fluorquinolonas, siendo en general su actividad mayor frente a bacterias gram-negativas en ambientes alcalinos, y poco afectada por el pH cuando se trata de bacterias gram-positivas (Brown,1996; McKellar,1996). En este sentido, Wetzstein y de Jong (1996) demostraron que en pH ligeramente ácido (característico de tejidos inflamados, abscesos o fagocitos) se reducía la tasa de muerte de algunas bacterias en presencia de enrofloxacin, mientras que a pH 8 la actividad bactericida de la enrofloxacin casi no varió. Sin embargo, en orina de perros y gatos, donde cabría suponer que el pH ácido afecta la actividad de las fluorquinolonas, la marbofloxacin ha mantenido actividad bactericida contra microorganismos sensibles durante 2 a 5 días posteriores a una única administración (McKellar,1996).

Las fluorquinolonas tienen poca actividad contra la mayoría de los anaerobios, y son menos efectivas contra anaerobios facultativos desarrollados en condiciones anaeróbicas, aún cuando el mecanismo de resistencia intrínseca de estas bacterias es poco conocido (McKellar, 1996).

Si bien no se ha demostrado ningún efecto fungicida *in vitro*, la utilización de fluorquinolonas parece aumentar la actividad de antifúngicos tradicionales en tratamientos de candidiasis diseminadas (Sugar y col.,1997).

Trabajos recientes han demostrado resultados prometedores en cuanto a la actividad tripanosomicida de las fluorquinolonas, especialmente las tetracíclicas (Nenortas y col.,1999).

La combinación de las fluorquinolonas con otros agentes antimicrobianos rara vez ha demostrado sinergismo o antagonismo (Neer,1988). En general, los aminoglucósidos, betalactámicos,

imidazoles, macrólidos y lincosamidas no muestran sinergismo con las fluorquinolonas contra enterobacterias, bacterias gram-positivas y anaerobios; pero rara vez muestran antagonismo. Sin embargo, ocurre antagonismo de fluorquinolonas con macrólidos y tetraciclinas frente a estreptococos y enterococos, y en general las fluorquinolonas son antagonistas con el cloranfenicol (Brown,1996) .

### III.5.1. Espectro de actividad

Las quinolonas no fluoradas tienen una actividad limitada y suelen ser activas únicamente contra algunas bacterias gram-negativas como *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp. y *Proteus mirabilis*, siendo ineficaces contra *Pseudomonas* spp. y anaerobios, y con una actividad relativamente modesta contra microorganismos gram-positivos (Sumano López,1993). Estas quinolonas, más específicamente el ácido nalidíxico y el ácido oxolínico, son escasamente utilizadas en medicina veterinaria debido a que sus características farmacocinéticas restringen el uso a infecciones de las vías urinarias, a que producen reacciones adversas, y a la rápida aparición de resistencia bacteriana. No obstante, demostraron ser útiles en el tratamiento de ciertas infecciones en los peces (Sumano López,1993).

Las **fluorquinolonas** tienen un amplio espectro antimicrobiano, y tienen una excelente actividad contra *Enterobacteriaceae*, bacterias Gram-negativas fastidiosas y *Pseudomonas aeruginosa*; buena a moderada actividad contra *Staphylococcus* spp., *Mycobacterias* spp., *Chlamydias* spp., *Mycoplasma* spp. y *Ureaplasma* spp.; y poca o ninguna actividad contra Estreptococos (particularmente del grupo D), Enterococos y bacterias anaerobias (Brown,1996; McKellar,1996). Sin embargo, las fluoroquinolonas de reciente introducción en medicina humana tienen mejor actividad contra anaerobios y cocos Gram-positivos, aunque es aún pobre la acción frente a Enterococos y bacterias Gram-negativas fermentadoras (Appelbaum y Hunter,2000).

La actividad de las primeras fluoroquinolonas, ciprofloxacina y ofloxacina, es modesta contra los *S. aureus* sensible a meticilina (MSSA) y *S. epidermidis* (Appelbaum y Hunter,2000). Las cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA) y *S. epidermidis* que han desarrollado resistencia a ciprofloxacina y ofloxacina tiene usualmente una sensibilidad disminuída a las fluoroquinolonas (Appelbaum y Hunter,2000). Es muy buena la actividad de clinafloxacina, gemifloxacina y sitafloxacina contra *Streptococcus pneumoniae*, y no es afectada por la susceptibilidad o resistencia a



betalactámicos y macrólidos (Appelbaum y Hunter,2000). La ciprofloxacina, ofloxacina y levofloxacina tienen muy buena actividad contra Mycoplasmas y Chlamidias (Appelbaum y Hunter,2000).

Las nuevas fluorquinolonas utilizadas en medicina veterinaria son más activas contra una variedad de patógenos gram-negativos y algunos gram-positivos, y han demostrado significativa actividad contra algunos Mycoplasmas y patógenos intracelulares persistentes tales como especies de *Brucella*, *Listeria* y *Chlamydia* (Ziv,1994), incluyendo algunos microorganismos capaces de sobrevivir en las células fagocíticas (Hawkins y col,1998).

La **ciprofloxacina** tiene un amplio espectro de acción frente bacterias Gram-negativas, *Staphylococcus* spp.(incluyendo aislados meticilino resistentes) y estreptococos (con la excepción de *Streptococcus faecalis* y *Streptococcus pneumoniae*) (Neer, 1988; Brown, 1996). Se ha reportado un impresionante efecto letal *in vitro* de la ciprofloxacina contra patógenos de los tractos gastrointestinal y respiratorio (e.g. *Salmonella* spp., *E. coli*, *Pasteurella* spp.), y contra virtualmente todos los patógenos bacterianos urinarios, incluyendo *Pseudomonas* spp. Con respecto a *Salmonella* y *E. coli* debe destacarse que la actividad antimicrobiana de la ciprofloxacina es al menos 7 veces mayor que la del flumequine (Muñoz y col.,1996). Sin embargo, se observó que la ciprofloxacina no fue capaz de erradicar la brucelosis en animales experimentalmente infectados, probablemente debido más a las características farmacocinéticas que a su potencia *in vitro* (Sumano López,1993)

La **norfloxacina** tiene excepcional actividad *in vitro* contra *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus* spp., *Mycoplasma hyopneumoniae* (Anadón y col.,1995b) y *Mycoplasma gallisepticum* (Chen y col., 1994).

La **danofloxacina** es efectiva contra aislados de *Pasteurella* spp. y *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Mann y Frame,1992). Ha sido efectiva en la terapia de enfermedades respiratorias de los bovinos producidas por *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica* y *Haemophilus somnus* (Giles y col.,1991).

La **marbofloxacina** tiene alta potencia bactericida y amplio espectro de actividad. Ha sido desarrollada para uso veterinario exclusivo en varias especies incluyendo bovinos. Está indicada para su uso contra varios patógenos bovinos y posee alta potencia contra *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* y *H. Somnus* (Aliabadi y Lees,1997).

Nuevas fluorquinolonas, tales como **sparfloxacin**, **temafloxacin** y **tosufloxacin**, tienen actividad incrementada contra Estafilococos, Enterococos, *Corynebacterium* spp., *Listeria monocitogenes* y *Bacillus* spp.; y tienen también actividad contra algunos clostridios como *Clostridium perfringens* y *C. difficile* (Brown,1996).

Recientemente se ha encontrado actividad de la **pefloxacin**, **ofloxacin** y **ciprofloxacina** contra *Plasmodium*, *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania donovani*, aunque *Toxoplasma gondii* no fue susceptible (Brown,1996).

La **enrofloxacin** tiene actividad de amplio espectro contra bacterias gram-positivo y gram-negativo incluyendo algunos anaerobios patógenos, y contra *Mycoplasma* spp. Es bactericida y micoplasmicida a bajas concentraciones, y eficaz contra organismos que son resistentes a los  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas, antagonistas del ácido fólico y macrólidos (Bauditz, 1987a). Cuando se comparó su efecto *in vitro* con el de otros antimicrobianos tales como la gentamicina, ampicilina, cloramfenicol, tetraciclinas, trimetoprima/sulfametoxazol, penicilina G y oxacilina, se encontró que la enrofloxacin era claramente superior en el rango de los Gram-negativos. Los valores de CIM para cocos Gram-positivos estaban dentro del rango de eficacia de la penicilina G, ampicilina, oxacilina y gentamicina, aunque la enrofloxacin fue superior en eficacia contra Estafilococos meticilino-resistentes. Comparada con otros derivados quinolónicos de uso en medicina veterinaria (flumequine) la enrofloxacin se distingue por un valor de CIM considerablemente menor, y la ventaja adicional de su eficacia contra *Mycoplasma* spp., *Pseudomonas* spp., y *Streptococcus* spp. (Scheer,1987a). Más del 50 % de los aislamientos de *P.aeruginosa* realizados a partir de perros, gatos, caballos, cerdos y vacunos demostraron susceptibilidad a la enrofloxacin (McKellar,1996), Además de su amplio espectro antibacteriano, el hecho de que la enrofloxacin sea micoplasmicida, la aventaja sobre otros agentes con buena actividad micoplasmática (Hannan y col.,1997).

La enrofloxacin se metaboliza en parte a ciprofloxacina (Küng y col.,1993; Kaartinen y col.,1995; Anadón y col.,1995a), y ese metabolismo es beneficioso desde el punto de vista microbiológico, ya que muchas bacterias gram-negativas tienen valores de CIM menores para la ciprofloxacina (Kaartinen y col.,1995), y es probable que el efecto antimicrobiano sea aditivo entre la

droga madre y el metabolito (Mengozi y col.,1996). Eso la diferencia de las otras fluorquinolonas, donde los metabolitos tienen poca actividad antimicrobiana (Wolfson y Hooper,1985).

La enrofloxacin y la ciprofloxacina tienen un amplio espectro de actividad, con valores de concentración inhibitoria mínima (CIM) que varían entre 0.008 a 0.06 µg/ml para la mayoría de los microorganismos altamente sensibles, y CIM entre 0.125 a 0.5 µg/ml para los microorganismos menos sensibles (Sheer,1987a; Prescott y Yielding,1990) Sheer (1987a) establece el punto de corte para sensibilidad a la enrofloxacin en 1.0 µg/ml. Bacterias con un valor de CIM de hasta 1.0 µg/ml son sensibles, mientras que organismos con  $CIM \geq 2.0$  µg/ml son considerados resistentes. Pero más tarde, el National Committee for Clinical Laboratory Standards recomendó un punto de corte  $\geq 2$  µg/ml para la enrofloxacin (NCCLS, 2001).

Marshall y col. (1996) estudiaron la sensibilidad a la enrofloxacin de varias cepas ATCC (American Type Culture Collection). Todas las cepas de *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus* estudiadas eran sensibles a una concentración de enrofloxacin  $\leq 1$  µg/ml. La mayoría de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* estudiadas fueron inhibidas con una concentración de enrofloxacin  $\leq 1$  µg/ml.

Para *Pasteurella multocida* se reportaron valores medios de CIM de 0.008 µg/ml (Sheer,1987a), 0.015 µg/ml (Prescott y Yielding,1990; Watts y col,1997) y 0.05 µg/ml (Yoshimura y col.,2001); y para *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* se reportó una CIM de 0.03 µg/ml (Watts y col.,1997).

En la tabla 5 se muestran rangos de CIM para microorganismos sensibles. El punto de corte para sensibilidad-resistencia a la enrofloxacin fue establecido en 2 µg/ml (NCCLS, 2001) A continuación se destacan algunos efectos terapéuticos en especies de animales domésticos

**Tabla 5.** Concentraciones Inhibitorias mínimas (CIM<sub>90</sub> en µg/ml) para algunos microorganismos

≤ 2.0	<i>Bordetella bronchiseptica</i> <sup>(g)</sup> , <i>Campylobacter coli</i> <sup>(i)</sup>
≤ 1.0	<i>P. aeruginosa</i> <sup>(a)</sup> , <i>Streptococcus</i> spp. <sup>(a)</sup> , <i>Enterococcus</i> spp. <sup>(a)</sup> , <i>A. pyogenes</i> <sup>(b)</sup> , <i>R. equi</i> <sup>(b)</sup> , <i>S. equi</i> <sup>(b)</sup> , <i>S. suis</i> <sup>(b)</sup> , <i>S. zooepidemicus</i> <sup>(b)</sup> , <i>M. hyorhinis</i> <sup>(h)</sup> , <i>C. jejuni</i> <sup>(i)</sup>
≤ 0.4	<i>Pseudomonas</i> spp. <sup>(a)</sup> ; <i>Staphylococcus</i> spp. <sup>(a)</sup> , <i>M. synoviae</i> <sup>(h)</sup> , <i>M. iowae</i> <sup>(h)</sup>
≤ 0.2	<i>Proteus</i> spp. <sup>(a)</sup> ; <i>E. coli</i> <sup>(a)</sup> , <i>Staphylococcus hyicus</i> <sup>(c)</sup> , <i>S. aureus</i> <sup>(e)</sup> , <i>Chlamydia psittaci</i> <sup>(f)</sup> , <i>M. hyopneumoniae</i> <sup>(d)</sup> , <i>M. hyosynoviae</i> <sup>(h)</sup> , <i>M. bovis</i> <sup>(h)</sup> , <i>M. agalactiae</i> <sup>(h)</sup>
≤ 0.1	<i>S. intermedius</i> <sup>(a)</sup> ; <i>S. aureus</i> <sup>(a)</sup> ; <i>E. coli</i> <sup>(d)</sup> , <i>C. pseudotuberculosis</i> <sup>(b)</sup> , <i>Salmonella</i> spp. <sup>(d)</sup> , <i>M. gallisepticum</i> <sup>(h)</sup>
≤ 0.05	<i>Klebsiella</i> spp. <sup>(a)</sup> , <i>K. pneumoniae</i> <sup>(a)</sup> ; <i>E. coli</i> <sup>(a)</sup> ; <i>P. mirabilis</i> <sup>(a)</sup> ; <i>S. intermedius</i> <sup>(a)</sup> ; <i>E. rhusiopathiae</i> <sup>(b)</sup> , <i>M. hyopneumoniae</i> <sup>(h)</sup>
≤ 0.02	<i>P. multocida</i> <sup>(a)</sup> , <i>P. haemolytica</i> <sup>(b)</sup> , <i>S. dublin</i> <sup>(b)</sup> , <i>S. typhimurium</i> <sup>(b)</sup> , <i>A. pleuropneumoniae</i> <sup>(d)</sup>
≤ 0.01	<i>A. pleuropneumoniae</i> <sup>(b)</sup> , <i>A. suis</i> <sup>(b)</sup> , <i>H. somnus</i> <sup>(b)</sup> , <i>P. multocida</i> <sup>(b,d)</sup>

[a] Cester y col.,1996; [b] Küng y col.,1993; [c] Wegener y col.,1994; [d] Scheer y col.,1996; [e] Salmon y col.,1998; [f] Butaye y col.,1997; [g] Speakman y col.,1997; [h] Hannan y col.,1997; [i] Aarestrup y col.,1997.

### Bovinos

Se demostró en terneros la eficacia de enrofloxacin en diarreas y sepsis producidas por *E. coli*, en infecciones experimentales del tracto respiratorio con *Mannheimia haemolytica* (antes *Pasteurella haemolytica*) y *Mycoplasma bovis*, y en infecciones latentes o manifiestas producidas por *Salmonella* spp. (Bauditz,1987a, Orden y col.,1999; Olchow y col.,2000).

Se obtuvieron buenos resultados con el uso de enrofloxacin en el tratamiento de mastitis causadas por *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Walser y col.,1993; Hoeben y col.,2000), *Mycoplasma bovis* (Ball y col.,1995; Aduriz y col.,1996), y *Streptococcus* spp. (Sumano López,1993), y en el tratamiento de mastitis tóxicas producidas por varios agentes patógenos (Menzies y col.,2000). También ha sido eficaz para la eliminación de la mastitis por *Staphylococcus* spp. mediante el tratamiento de vaca seca (Bolourchi y col.,1995). Otros autores (Walser y col.,1993) afirman que el efecto antibacteriano no fue suficiente en mastitis producidas por *Streptococcus* spp.

Tampoco han sido satisfactorios los resultados en los tratamientos parenterales con enrofloxacin en mastitis causadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a la penicilina (Pyorala y col.,1998). Devriese y col. (2002) informaron de la eficacia de enrofloxacin frente a *S. chromogenes* productor de mastitis.

Lekeux y Art (1988) reportaron la alta eficacia de bajas dosis de enrofloxacin en el tratamiento de la fiebre de embarque en bovinos adultos, atribuida a la actividad antibacteriana frente a *Pasteurella* spp. y *Mycoplasma* spp.

La enrofloxacin es eficaz también en el tratamiento de la pleuroneumonía contagiosa bovina (*Mycoplasma mycoides subsp. Mycoides*) (Egwu y col.,1998)

Se demostró que *Salmonella typhimurium* DT104, una de las principales causas de infecciones entéricas zoonóticas en varios países, cuyo principal reservorio son los bovinos, es sensible a la enrofloxacin (Beaudin y col.,2002).

Estudios realizados *in vitro* demostraron buena actividad de la enrofloxacin frente a *Arcobacter butzleri* y *Arcobacter cryaerophilus*, dos microorganismos aislados de fetos bovinos y porcinos (Fera y col.,2003).

### Ovinos

Se han establecido CIM para algunos de los microorganismos potencialmente patógenos para los ovinos. Prescott y Yielding (1990) y Costa y col. (1998) informaron de una  $CIM_{90} \leq 0.25 \mu\text{g/ml}$  para *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

La CIM para *Staphylococcus aureus* fue establecida  $0.12 \mu\text{g/ml}$  ( $0.03$  a  $1.0 \mu\text{g/ml}$ ) por Scheer (1987a),  $0.13 \mu\text{g/ml}$  por Watts y col. (1995),  $0.06 \mu\text{g/ml}$  por Wetzstein y de Jong (1996), y  $0.25 \mu\text{g/ml}$  por Salmon y col. (1998). Watts y col. (1995) informaron de una CIM de  $0.5 \mu\text{g/ml}$  para *Streptococcus agalactiae* y *S. dysgalactiae*. Sin embargo, otros autores (Marshall y col.,1996; Owens y col.,1996) reportaron CIM de enrofloxacin para varias especies de *Streptococcus* de hasta  $2 \mu\text{g/ml}$ .

Hannan y col. (1997) y Loria y col. (2003) encontraron valores de CIM de enrofloxacin en un rango comprendido entre  $0.125$  a  $0.5 \mu\text{g/ml}$  para *Mycoplasma agalactiae*, agente productor de agalactia contagiosa y queratoconjuntivitis en ovinos.

Orden y col. (2001) reportaron concentraciones inhibitorias mínimas de 0.0625 µg/ml para cepas de *Escherichia coli* aisladas de ovinos.

La CIM para *Haemophilus somnus*, agente productor de neumonía, mastitis, poliartritis, meningitis, epididimitis, orquitis y septicemia en ovinos, fue establecida en 0.015-0.03 µg/ml (McDermott y col.,2001).

En el tratamiento de ovejas con mastitis agudas producidas por *Staphylococcus aureus* se obtuvo una rápida restauración del órgano y la reanudación de la producción normal de leche. Loria y col. (2003) reportaron que la enrofloxacin fue el antimicrobiano más efectivo *in vitro* contra *Mycoplasma agalactiae* aislados de ovinos, con valores de CIM entre 0.125 y 0.5 µg/ml. Sin embargo, previamente se encontró que en ovejas afectadas de agalactia contagiosa (*Mycoplasma agalactiae* var. *Agalactiae*) y en aquellas con mastitis gangrenosa (*Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens*), hubo recuperación del estado general luego del tratamiento con enrofloxacin, pero las lesiones de las ubres permanecieron sin cambios e interfirieron con la producción de leche. Sí se obtuvo una rápida recuperación clínica en corderos afectados de enteritis por *E. coli*. (Catarsini y col.,1991). Otro estudios han demostrado la susceptibilidad de *Staphylococcus* spp. aislados de mastitis ovina, tanto clínicas como subclínicas, a la enrofloxacin (Fthenakis,1998). Fueron también sensibles a esta droga cepas de *Escherichia coli* aisladas de corderos con diarrea (Cid y col.,1994).

La enrofloxacin fue uno de los dos antimicrobianos más acitvos frente a *Aeromonas hydrophila* asociada con aborto ovino (Ilhan y col., 2005)

### Equinos

Los ensayos de susceptibilidad *in vitro* de 121 aislados bacterianos de equinos indicaron que el 100 % de las bacterias Gram (-) y *Staphylococcus* spp. coagulasa positivos fueron susceptibles a la enrofloxacin a CIM < 0.5 µg.ml (Giguère y col.,1996). Las bacterias Gram negativas incluyeron *E. Coli*, *Taylorella equigenitalis*, *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Actinobacillus equuli*, y *P. aeruginosa*. Sin embargo, la susceptibilidad de *P. aeruginosa* a la enrofloxacin es variable. Para *S. equi*, *S. zooepidemicus*, y *Rhodococcus equi*, la CIM<sub>90</sub> fué de 1 µg/ml. Varias cepas de *Salmonella* aisladas de equinos (*S. typhimurium*, *S.thompson*, *S. heidelberg*, *S. hadar*, *S. enteritidis*, *S. infantis* y *S. derby*) fueron sensibles a enrofloxacin (Van Duijkeren y col.,1995; Van Duijkeren y col.,2002)

### Porcinos

La enrofloxacin mostró buena actividad frente a *Streptococcus suis* (Aarestrup y col.,1998a), *Mycoplasma hyosynoviae* (Aarestrup y Friis, 1998b), *A. pleuropneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *S. typhimurium*, *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, *Streptococcus equi* subsp. *equi*, *S. equi* subsp. *zooepidemicus* (Salmon y col.,1995) y *Erysipelothrix rhusiopathiae* (Yamamoto y col.,2001) aislados de cerdos. El rango de concentraciones inhibitorias mínimas para *A. pleuropneumoniae* fue de 0.008-0.06 µg/ml (McDermott y col.,2001).

Las concentraciones plasmáticas alcanzadas luego de su administración oral, tanto en bolo como con el alimento, fueron superiores a las CIM<sub>90</sub> para *Pasteurella multocida*, *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae*, *E. coli* y *Salmonella* spp. (Richez y col.,1994a; Scheer y col.,1996). Además, la droga se acumula en leucocitos polimorfonucleares y en macrófagos alveolares, y es activa intracelularmente frente a *A. pleuropneumoniae* y *P. multocida* (Schoevers y col.,1999).

La enrofloxacin fue eficaz en el tratamiento del síndrome Mastitis Metritis Agalactia (Schoning y Plonait,1990) y en infecciones producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae* (Bauditz,1987a), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Smith y col.,1991, Wallgren y col.,1999; Yoshimura y col.,2002), *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* (Sumano López,1993) y *E. coli* enterotoxigénica (Kyriakis y col.,1997). También fue efectiva en el tratamiento de la epidermitis exudativa porcina causada por *Staphylococcus hyicus* (Wegener y col.,1994; Toriumi y col.,1997). La CIM de enrofloxacin para *Mycoplasma hyorhinis*, un patógeno productor de otitis, pleuritis, peritonitis, pericarditis, y artritis en cerdos, es de 2 µg/ml (Wu y col.,2000).

### Caninos

Los ensayos clínicos y experimentales han mostrado resultados positivos en el tratamiento con enrofloxacin de las infecciones de la piel y de los tractos respiratorios, digestivos y genito-urinarios en perros y gatos, así como en otitis externas e infecciones de heridas (Bauditz,1987c; Vancutsem y col,1990). Las altas concentraciones del antimicrobiano alcanzadas en macrófagos alveolares y en el fluido del epitelio de revestimiento pulmonar, permiten asegurar el éxito de una terapéutica en infecciones de las vías respiratorias altas (Hawkins y col.,1998).

En tejidos y fluidos prostáticos la enrofloxacinina alcanzó concentraciones mayores que las CIM de casi todos los microorganismos causante de infecciones del tracto urinario de los perros (Dorfman y col.,1995). Sin embargo, cuando las infecciones son causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, las concentraciones alcanzadas en los tejidos –a las dosis recomendadas por el fabricante- no son totalmente efectivas (Walker y col.,1992; Duval y Budsberg,1995). Se ha encontrado baja susceptibilidad de *Pseudomonas* spp. aisladas de otitis crónica en perros (Barrasa y col.,2000).

La enrofloxacinina es efectiva en el tratamiento de piodermitis causadas por *Staphylococcus intermedius*, y puede ser una buena alternativa frente a cepas meticilino resistentes (Piriz y col.,1996; DeManuelle y col.,1998; Pellerin y col.,1998; Ganiere y col.,2001). También es efectiva en infecciones causadas por *Staphylococcus* spp. (Kruse y col.,1996), *Rickettsia rickettsii* (Breitschwerdt y col.,1991), *Ehrlichia canis* y *E. platys* (Kontos y Athanasiov,1998), y *Bordetella bronchiseptica* (Speakman y col.,2000).

Se demostró sinergia entre enrofloxacinina y estreptomycinina frente a cepas referencia de *Brucella canis* RM 6/66 (Mateu-de-Antonio y Martin,1995).

### Felinos

La enrofloxacinina es efectiva en el tratamiento de infecciones causadas *Mycobacterium fortuitum* y *M. smegmatis* en felinos (Studdert y Hugues,1992).

La enrofloxacinina es eficaz frente a *Bordetella brochiseptica* aisladas de gatos (Speakman y col., 1997; Carbone y col., 2001).

Los datos de susceptibilidad *in vitro* indican que la enrofloxacinina debería ser efectiva contra *Bartonella* spp. en gatos, sin embargo, estudios *In vivo* muestran que es necesaria una terapia de varias semanas, y que no en todos los animales desaparece la bacteriemia (Kordick y col.,1997). Enrofloxacinina es activa frente a *Haemobartonella felis* (Dowers y col., 2002).

### Aves

Enrofloxacinina fue eficaz en tratamientos preventivos y terapéuticos de pollos infectados con *E.coli*, *S. typhimurium*, *S. gallinarum*, *S. arizonae*, *S. pullorum*, *H. paragallinarum*, , *E. rhusiopathiae*, (Bauditz,1987b), *P. multocida* (Bauditz,1987b; Aye y col.,2001) *Mycoplasma gallisepticum* (Ortiz y



col.,1995; Barbour y col.,1998; Jordan y col., 1998); *Mycoplasma iowae*, *M. synoviae* (Hannan y col.,1997), *E. coli* (Charleston y col.,1998), y asociaciones entre *E. coli* y *Mycoplasma* spp. productores de enfermedad respiratoria crónica (Sumano López y col.,1998).

Enrofloxacin fue eficaz en la erradicación de *Salmonella enteritidis* en planteles de pollos de crianza (Edel,1994). El tratamiento con enrofloxacin y la administración conjunta de flora intestinal normal protege a los pollitos de la reinfección con *Salmonella enteritidis* y puede ayudar en la eliminación de este microorganismo de pollitos persistentemente infectados (Seo y col.,2000a). Un tratamiento similar puede reducir significativamente la diseminación de este patógeno en gallinas ponedoras sometidas a situaciones de estrés tales como la muda de plumaje (Seo y col.,2000b)

Fueron sensibles a la enrofloxacin *Haemophilus paragallinarum* y *H. Avium* aislados de aves con síntomas característicos de coriza (Prabhakar y col.,1998).

Enrofloxacin fue uno de los antimicrobianos más efectivos contra un gran número de cepas bacterianas aisladas de pavos, incluyendo *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp., estafilococos coagulasa positivos y coagulasa negativos, *Streptococcus* spp. y enterococos (Salmon y Watts,2000). Asimismo, en otros estudios se mostró eficaz *in vitro* frente a *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. (Heinen y col.,1997) y *Chlamydia psittaci* (Butaye y col.,1997) aisladas de pavos. En estas aves es efectiva para prevenir la transmisión vertical de *Mycoplasma iowae* (Jordan y col.,1993) y *Mycoplasma gallisepticum* (Delaporte y col.,1994), de modo que el tratamiento con enrofloxacin en períodos estratégicos podría ser útil en el control de micoplasmosis en pavos, limitando tanto la transmisión vertical como horizontal en pavos (Jordan y col.,1993).

El tratamiento de patos con enrofloxacin en el agua de bebida es efectivo contra *Riemerella anapestifer* (antes *Pasteurella anatipestifer*), un importante agente infeccioso en esta especie (Froyman y col.,1994, Turbahn y col.,1997))

La enrofloxacin fue eficaz en la profilaxis y en tratamientos de aves con psitacosis (Lindenstruth y Frost,1993).

### Otras especies

La enrofloxacin es eficaz en el tratamiento de mastitis en búfalos (Kumar y Thakur,2000), en el tratamiento de la disentería por *Shigella flexneri* en monos Rhesus (Blackschultz y col.,1997), y en el tratamiento de septicemia aguda causada por *Pasteurella multocida* en conejos (Okerman y col.,1990). El tratamiento con enrofloxacin a conejas en el parto no eliminó completamente a *Pasteurella multocida* de sus cavidades nasales, pero todas las crías nacidas de las hembras tratadas fueron libres de este agente., lo cual demuestra que este tipo de tratamientos puede ser útil para obtener conejos libres de *P. multocida* a partir de hembras infectadas (Suckow y col.,1996). Broome y col. (1991) coincide en la efectividad de enrofloxacin contra la pasteurelisis en conejos. Sin embargo, otros autores (Mahler y col.,1995) reportan el fracaso del tratamiento de conejos infectados natural y artificialmente con *Pasteurella multocida*. Efectivamente, aunque las concentraciones de enrofloxacin alcanzadas en suero y en los cornetes nasales fueron mayores que la CIM para este microorganismo, *Pasteurella multocida* pudo ser detectada en las cavidades nasales, cornetes, tráquea, oído medio y externo en animales infectados luego de su tratamiento.

Todas las cepas de *Escherichia coli* aisladas de visones, tanto sanos como con diarrea, fueron sensibles a la enrofloxacin (Vulfson y col.,2001).

Se ha comprobado la eficacia de la enrofloxacin en el tratamiento de enfermedades causadas por bacterias en las tortugas (Raphael y col.,1994), especialmente en la enfermedad del tracto respiratorio alto o Síndrome URTD causado por *Mycoplasma* y *Pasteurella* (Jacobson,1991; Prezant y col.,1994).

En pitones de Birmania (*Phyton molurus bivittatus*) se alcanzaron concentraciones plasmáticas de enrofloxacin efectivas contra *Pseudomonas aeruginosa* (Young y col.,1997).

Se han obtenido muy buenos resultados con esta droga en el tratamiento de los patógenos habituales de peces de crianza artificial (Stoffregen y col.,1993; Williams y col.,1997). En estudios *in vitro* la enrofloxacin fue el antimicrobiano de mayor actividad frente a *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, *Vibrio salmonicida*, *Vibrio anguillarum* y *Yersinia ruckeri*, todos patógenos en peces (Martinsen y col.,1992)y bse ha demostrado su eficacia en el tratamiento de infecciones por *Campylobacter cryaerophila* en truchas (Aydin y col.,2000). Enrofloxacin fue efectiva también frente a especies de *Vibrio* aislados de camarones de criaderos (Roque y col.,2001).

### III.6. Resistencia bacteriana a las quinolonas

El amplio espectro de actividad antimicrobiana, el excelente comportamiento farmacocinético y la escasa toxicidad, han hecho de las nuevas fluoroquinolonas agentes muy atractivos para el tratamiento de enfermedades infecciosas severas, tanto en humanos como en animales. Sin embargo, el excelente desempeño de estas drogas antimicrobianas ha llevado a un uso abusivo y/o inadecuado de las mismas, con el inevitable resultado de aparición de resistencia microbiana (Ziv, 1994; Couturier y col., 1998).

En general, las bacterias desarrollan resistencia a los antimicrobianos alterando sus genes o adquiriendo nuevos genes a través de plasmidios, transposones, e integrones o casetes genéticos. La adquisición de nuevo material genético tiene escasa importancia en la resistencia de los microorganismos a las fluoroquinolonas. Este grupo de drogas adquiere resistencias principalmente a través de mutaciones espontáneas que ocurren con baja frecuencia en los genes cromosomales (Acar y col., 1993; Couturier y col., 1998; Hooper, 2002). Esto permitió abrigar esperanzas de que la diseminación de resistencia a las quinolonas fuera de proyección baja, sin embargo esas predicciones resultaron ser demasiado optimistas. La resistencia a las quinolonas es hoy un problema real en algunas bacterias Gram-positivas (especialmente *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes) y ocurre en varias especies de bacterias Gram-negativas (Couturier y col., 1998).

Las quinolonas incrementan la tasa de mutaciones bacterianas debido a su habilidad para dañar el ADN y disparar la respuesta SOS de reparación. Esto podría aumentar la posibilidad de aparición de resistencia en poblaciones bacterianas, especialmente cuando están expuestas a bajas dosis de la droga (Couturier y col., 1998; Hooper, 2002). Las mutaciones que producen resistencia a las fluoroquinolonas lo hacen por dos mecanismos básicos: alteración en la interacción entre la droga con su sitio diana, y cambios que afectan el acceso de la droga a ese sitio (Hooper, 2002).

La resistencia a las fluoroquinolonas tiene rasgos característicos (Dever y Dermody, 1991; Acar y col., 1993; Couturier y col., 1998; Piddock, 1999a, Hooper, 2001; Hooper, 2002) :

- es mediada por cromosomas;
- un clon resistente puede ser rápidamente seleccionado en el curso de un tratamiento;
- las células resistentes son estables;
- no se han encontrado enzimas que modifiquen o degraden a las quinolonas como mecanismos de resistencia;
- los mecanismos de resistencia comprenden:
  - (a) alteración de las enzimas diana;
  - (b) mecanismo de expulsión activa; y
  - (c) cambios en la permeabilidad de la membrana celular.

La alteración de las enzimas diana es el principal mecanismo de resistencia a las fluoroquinolonas, y se origina en mutaciones espontáneas de los genes *gyrA* y *gyrB* que codifican para las subunidades de la ADN girasa, y en los genes *parC* (*griA*) y *parE* (*griB*) que lo hacen para las subunidades de la topoisomerasa IV (Marians y Hiasa, 1997; Fournier y Hooper, 1998; Hooper, 2001). La resistencia ocurre debido a cambios en los aminoácidos, particularmente en ciertas regiones de los genes que codifican para cada enzima, llamadas “regiones determinantes de resistencia a quinolonas” (“quinolone-resistance-determining-region” o QRDR), que hacen a las enzimas menos sensibles a la inhibición por las fluoroquinolonas (Piddock, 1999a; Hooper, 2002). Las secuencias aminoacídicas de las regiones determinantes de resistencia a las quinolonas son altamente conservadas (Weigel y col., 1998). Pueden ser mutaciones puntuales en uno o más genes, mutaciones en más de un sitio del mismo gen, o mutaciones múltiples, particularmente en *gyrA* y *parC* (Li y col., 1998; Taba y Kusano, 1998; Weigel y col., 1998). La presencia de mutaciones adicionales, en el mismo gen o en otro, da lugar a un aumento en los niveles de resistencia (Hooper, 2002). Por ejemplo, la presencia simultánea de alteración en los genes *gyrA* y *parC* está asociado con el desarrollo de resistencia de alto nivel en *E. faecalis* (Kanematsu y col., 1998), *S. epidermidis* (Li y col., 1998), *S. pneumoniae* (Taba y Kusano, 1998) y *C. jejuni* (Gibreel y col., 1998). Se han descrito además resistencias a distintas fluoroquinolonas y en distintos niveles, dependiendo de la cantidad y combinación de las mutaciones (Varon y col., 1999).

Sin embargo, la adquisición de dos mutaciones al mismo tiempo es un evento raro. Las mutaciones se dan en etapas, y el orden en que ocurren depende a veces de la especie bacteriana. (Drlica, 1999). Para muchas bacterias gram-negativas, como *E. coli*, la primera etapa de resistencia por mutación ocurre en *gyrA*, y menos comúnmente en *gyrB*. En contraste, para muchas bacteria gram-positivas, como *S. aureus*, la primera etapa ocurre en *parC*, y menos frecuentemente en *parE* (Hooper, 1999).

Debido a que las fluoroquinolonas interactúan con ambas enzimas diana, si bien con variada potencia, y a que ambas enzimas son esenciales para la replicación del ADN, el nivel de resistencia de una bacteria con una mutación en la topoisomerasa IV puede ser afectado por la potencia de la quinolona para inhibir la ADN girasa, y viceversa (Hooper, 2002). Cuando aparecen mutaciones en la enzima primaria, el aumento de la resistencia puede estar limitado por el nivel de sensibilidad del sitio diana secundario, que pasa a ser la enzima más sensible (Hooper, 1999). Y cuando una quinolona actúa sobre ambas enzimas diana en igual grado, se necesita una mutación dual para cualquier aparición de resistencia (Hooper, 2002). Ese parece ser el caso de la clinafloxacin frente a *Streptococcus pneumoniae* en medicina humana, donde es necesaria una combinación de mutaciones en ambas enzimas para la aparición de resistencia (Xiao-Su y Fisher, 1998). Debido a esto las nuevas fluoroquinolonas no seleccionan bacterias resistentes a una tasa tan alta como lo hacen la ciprofloxacina y la ofloxacina, probablemente por una acción combinada contra ADN girasa y topoisomerasa IV (Appelbaum y Hunter, 2000). Cuanto más potencia tiene una fluoroquinolona en atacar ambas enzimas simultáneamente, menos incremento en la concentración inhibitoria mínima se produce luego de una mutación simple de primer paso (Hooper, 2001).

Otro mecanismo de resistencia a las fluoroquinolonas es el eflujo activo de la droga. Las bacterias poseen proteínas de membrana que tienen importantes funciones de transportadores hacia adentro y hacia fuera de las células. Algunas de esas proteínas, halladas tanto en bacterias Gram-positivas como Gram-negativas, son bombas de eflujo que remueven sustancias tóxicas desde el citoplasma y la membrana citoplasmática hacia el exterior. Dentro de esas bombas están las que pueden remover antibióticos, y algunas llamadas “bombas de resistencia a multidrogas” (MDR) pueden remover varios de estos compuestos. El eflujo como mecanismo de resistencia a los antimicrobianos fue reportado por primera vez en la década de los años 1980 para las tetraciclinas

(Tran y Jacoby, 2002). Sin embargo, estos transportadores múltiples son de origen ancestral, y no un producto de evolución durante la era de los antibióticos (Hooper, 2002; Webber y Piddock, 2003). Algunos de estos sistemas se comportan como bombas de eflujo multidroga capaces de transportar fluoroquinolonas fuera de la célula, así como otros varios compuestos estructuralmente no relacionados, (Poole, 2000; Cloeckaert y Chaslus-Dancla, 2001; Hooper, 2002; Webber y Piddock, 2003).

Está ampliamente aceptado que la resistencia intrínseca a algunos antibióticos en las bacterias Gram-negativas es el resultado de la actividad de bombas de eflujo (Webber y Piddock, 2003).

Los sistemas de eflujo MDR para fluoroquinolonas constituirían una parte esencial en estas bacterias, y funcionarían en forma independiente del eflujo de antibióticos y de los fenómenos de resistencia (Poole, 2000). En este tipo de bacterias, los sistemas de eflujo están constituidos por tres componentes: a) la bomba de eflujo propiamente dicha, localizada en la membrana citoplasmática, b) una proteína externa de membrana, y c) una proteína de fusión que une las dos anteriores. En muchos casos estos componentes están codificados por un operón, con genes reguladores controlando su expresión, aunque las condiciones bajo las cuales aumenta su expresión son desconocidas (Hooper, 2001; Webber y Piddock, 2003). El aumento de la expresión de las bombas de eflujo puede resultar de mutaciones de genes represores locales, o de la activación de un gen regulador. Los sistemas más estudiados son los sistemas reguladores globales *marRAB* y *soxRS* de *Escherichia coli*. Los genes *marR* y *soxR* codifican para proteínas represoras que regulan la expresión de los genes *marA* y *soxS*, respectivamente, de modo que la represión de los primeros conduce a una sobreexpresión de los segundos.

Las cepas de *Escherichia coli* resistentes a las fluoroquinolonas han demostrado una sobreexpresión de MarA o SoxS. Las mutaciones que aumentan la expresión de los activadores transcripcionales *marA* o *soxS* en *E. coli* afectan la expresión de una variedad de genes, incluyendo *ompF* y *acrAB*. Esto produce una disminución de la expresión de las porinas OmpF, y por lo tanto una disminución del ingreso de droga, y un aumento de la expresión de *acrAB* con el resultante incremento del eflujo de la droga desde la célula (Cloeckaert y Chaslus-Dancla, 2001; Piddock, 2002; Webber y Piddock, 2003)..

Sistemas de eflujo que contribuyen a la resistencia a los antimicrobianos, incluyendo a las fluoroquinolonas, han sido descritos en *Escherichia coli* (AcrAB-TolC, AcrEF-TolC, EmrB, EmrD), *Campylobacter jejuni* (CmeABC), *Pseudomonas aeruginosa* (MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN y MexXY-OprM), *S. pneumoniae* (PmrA), *Salmonella typhimurium* (AcrB) y *S. aureus* (NorA) (Kaatz y Seo, 1997; Piddock, 1999a, Giraud y col., 2000; Poole, 2000; Cloeckert y Chaslus-Dancla, 2001; Hooper, 2001; Webber y Piddock, 2003).

Por otra parte, este mecanismo de resistencia parece afectar a las quinolonas en distinto grado, dependiendo de las propiedades físicas de cada una, siendo aparentemente más activo con las fluoroquinolonas hidrofílicas, tales como la ciprofloxacina y norfloxacina, que en otras como la sparfloxacina, levofloxacina, gatifloxacina y moxifloxacina (Brighty y Gootz, 1997; Kaatz y Seo, 1997; Hooper, 2002).

Aunque estos sistemas de eflujo de quinolonas pueden contribuir mínimamente a los niveles intrínsecos de sensibilidad o resistencia en cepas susceptibles, parecen tener un rol importante en el aumento de la resistencia en bacterias que ya manifiestan una disminución en el ingreso de quinolonas, como sucede en los mutantes Mar de *E. coli* (Levy, 1992, Webber y Piddock, 2003). Este mecanismo podría constituir una primera etapa en el desarrollo de resistencia, que permitiría a la bacteria sobrevivir hasta que se produzca la acumulación de mutaciones en los genes codificadores de las enzimas diana. Además, mientras que el incremento de los valores de CIM para algunas bacterias ha sido modesto, para *P. aeruginosa* y *S. aureus* fue suficiente para permitir que las bacterias resistan concentraciones mayores a los puntos de corte recomendados para muchos antimicrobianos (Piddock, 1999a).

Un problema adicional con la resistencia a las fluoroquinolonas por un mecanismo de eflujo es que la exposición a cualquier agente favorece la resistencia cruzada hacia agentes que pertenecen al tipo de sustrato de la bomba. Los transportadores AcrB usan una amplia variedad de sustratos, expulsando varias clases de antimicrobianos tales como quinolonas, betalactámicos, tetraciclinas, cloramfenicol, eritromicina, y rifampicina, y también agentes desinfectantes, tinturas, detergentes, bilis, sales y solventes orgánicos (Poole, 2000; Cloeckert y Chaslus-Dancla, 2001). La expresión de *marA* y *soxS* es inducible por un número de compuestos no relacionados, que incluyen quinolonas, tetraciclinas, cloramfenicol, dinitrofenol, menadiona, paraquat, benzoato y salcilito de

sodio, y desinfectantes como el aceite de pino (Piddock, 2002). Se han descrito cepas multiresistentes debido a la presencia de eflujo multidroga, como ejemplo una cepa de *C. jejuni* resistente a ciprofloxacina, cefotaxime, y sensibilidad disminuída frente a cloranfenicol, tetraciclina y eritromicina (Piddock, 1999b). Los mutantes de *P. aeruginosa* que sobreproducen MexAB son menos sensibles a los antimicrobianos fluoroquinolonas, betalactámicos, cloranfenicol y trimetoprim, pero también al triclosan, un biocida de uso hogareño (Webber y Piddock, 2003).

El mecanismo de resistencia por impermeabilidad afecta únicamente a las bacterias Gram-negativas, y se produce por disminución en la expresión de algún tipo de proteína de la membrana externa (porinas OmpF, OmpC en *E. coli*), o debido a modificaciones de los lipopolisacáridos, que resultan en una menor acumulación del antimicrobiano, y en una consecuente disminución de la susceptibilidad microbiana (Alarcón y López Brea, 1996; Brighty y Gootz, 1997). Pero la medida de las tasas de difusión sugiere que este factor no es suficiente para originar resistencia, si no está acompañado de otro factor, como la presencia de bombas de eflujo (Hooper, 2001).

Los altos niveles de resistencia a fluoroquinolonas se obtienen, generalmente, por la asociación de 2 o 3 mecanismos de resistencia en la misma bacteria. Eso puede significar mutaciones en varios genes, incluyendo los que codifican las enzimas diana y aquellos que codifican para sistemas de eflujo (Alarcón y López Brea, 1996; Piddock, 1999a).

No se ha descrito inactivación enzimática de quinolonas ni de fluoroquinolonas por los microorganismos, y se acepta generalmente que no existe resistencia mediada por plasmidios para las fluoroquinolonas (Appelbaum, 1991; Dowling y col., 1995; Brown, 1996; Hooper, 2002). La imposibilidad de transferir resistencia por plasmidios podría deberse a que estas drogas inhiben la conjugación (McKellar, 1996). Sin embargo, Martínez-Martínez y col. (1998) han reportado el hallazgo de un plásmido, llamado pMG252, con capacidad de transferir resistencia a fluorquinolonas *in vitro*, obtenido a partir de un aislado clínico de *Klebsiella pneumoniae*. No se conocen el mecanismo de esta resistencia transferible, ni la prevalencia del plásmido en la práctica clínica (Hooper, 2001). Tampoco pudo detectarse inactivación de la droga, ni cambios en la expresión de las porinas o reducción en la acumulación de quinolonas, por lo que cree que debe estar implicado otro mecanismo de resistencia (Tran y Jacoby, 2002). Estudios sobre el gen *qnr* (*plasmid-quinolon resistance gene*) de este plásmido han demostrado que la sustancia Qnr para la cual codifican protege a ADN girasa de la



inhibición por la ciprofloxacina. Este gen no produce por sí mismo un nivel de resistencia como para considerar resistente a la bacteria que lo porte. Sin embargo, su importancia clínica reside en la suma de efectos entre el bajo nivel de resistencia que produce este gen, y otras mutaciones de resistencia, con la subsecuente mayor facilidad de adquisición de resistencia de alto nivel por las cepas que portan el plásmido en comparación con las que no lo hacen (Tran y Jacoby, 2002).

La resistencia cruzada entre quinolonas se observa con mayor frecuencia entre las más antiguas, como el ácido nalidíxico y el flumequine (Brown, 1996), pero existe también entre éstas últimas y las fluoroquinolonas (Bazile y col., 1996), y entre fluoroquinolonas entre sí (Appelbaum, 1991; Sumano López, 1993). La resistencia inducida por una fluoroquinolona puede originar resistencia del mismo nivel en otra fluoquinolona de similar estructura. Por ejemplo, se ha demostrado la rápida aparición de resistencia a las fluoroquinolonas de uso humano con la utilización de enrofloxacin como agente promotor del crecimiento. El tratamiento de pollos y cerdos con enrofloxacin originó la aparición de resistencia a esta droga y otras fluoroquinolonas en cepas de *Campylobacter* (McDermott y col., 2002; Luo y col., 2003; van Boven y col., 2003; Delsol y col., 2004a) y *Salmonella* (Wiuff y col., 2003; Delsol y col., 2004b).

Con respecto a la enrofloxacin, se ha reportado disminución de la susceptibilidad o resistencia a esta droga en *Campylobacter jejuni* y *C. coli* (Jacobsreitsma y col., 1994; Aarestrup, 1997; Gibreel y col., 1998; Avrain y col., 2003; Pedersen & Weddekopp, 2003; Pezzotti y col., 2003), *E. coli* (Abdelkader, 1995; Orden y col., 1999; Orden y col., 2001; Hsiang y Szu, 2000; White y col., 2000), *Salmonella* spp. (Malorny y col., 1999; Piddock y col., 1990; van Duijkeren y col., 2002; Antunes y col., 2003); *Aeromonas salmonicida* (Oppegaard & Sorum, 1994); *Pseudomonas* spp. (Bailey y col., 1998; Barrasa y col., 2000, Seol y col., 2002); *E. faecalis* y *E. faecium* (Butaye y col., 2001; Peters y col., 2003), *S. intermedius* (Lloyd y col., 1999) y *Listeria monocytogenes* (Antunes y col., 2002).

Existen tres áreas principales en las que el uso de antimicrobianos en animales representa un riesgo para la salud pública. Una es la exposición a los antimicrobianos en el momento de la administración a los animales, ya sea en forma directa o cuando se incorporan a los alimentos. Este tipo de exposición directa se da en veterinarios, trabajadores rurales, manipuladores de animales, o personal que prepara alimentos adicionados con antimicrobianos. En estos casos es posible que

ocurran problemas alérgicos, toxicidad directa, o que el antimicrobiano afecte la flora intestinal del operador. Otra área de riesgo proviene de los efectos de los antimicrobianos utilizados en animales sobre las bacterias presentes en los mismos. Específicamente, el riesgo emergente de la presión de selección ejercida sobre las bacterias presentes en alguna parte del animal, las cuales pueden ser microorganismos banales o patógenos zoonóticos, pero que pueden adquirir resistencia a los antimicrobianos y transformarse en donantes de la misma a los seres humanos (Taylor, 1999). Finalmente, la introducción de nuevos antimicrobianos en la alimentación animal, utilizados a niveles subterapéuticos como promotores de crecimiento, conduce a menudo al desarrollo de un pool de genes de resistencia a los antibióticos, muchos con impacto potencial en medicina humana y veterinaria (Feinman, 1998; Taylor, 1999).

Varios estudios han demostrado que la resistencia a las fluoroquinolonas se ha desarrollado lentamente, coincidentemente con la aprobación y el mayor uso de estos compuestos en animales productores de alimentos y en humanos (Sumano López, 1993). El incremento en la incidencia de bacterias resistentes a las fluoroquinolonas en humanos no expuestos a estos antimicrobianos podría ser el resultado de su extenso uso en medicina veterinaria (Ziv, 1994); y a menudo la emergencia de dicha resistencia en humanos ha coincidido con la aprobación del uso de fluoroquinolonas en producción animal (Engberg y col., 2001). Cabe citar como ejemplo que, antes de que las fluoroquinolonas fueran introducidas en medicina veterinaria, habían sido ampliamente usadas en medicina humana sin emergencia de cepas de *Campylobacter* resistentes a las mismas. Sin embargo, en muchos países de Europa se notó una rápida emergencia de resistencia a quinolonas en *Campylobacter* aislados de pacientes humanos luego de la introducción de la enrofloxacin en medicina veterinaria (Engberg y col., 2001). Endtz y col. (1991) postularon que la emergencia de cepas de *C. jejuni* y *C. coli* resistentes a fluoroquinolonas aisladas de humanos en Holanda coincidía con la introducción de esta clase de drogas en medicina veterinaria. En ese país, donde el flumequine era usado desde los 80' y la enrofloxacin fue introducida en 1987, el 29 % de *Campylobacter* spp. aislados de animales en 1993 fueron resistentes al ácido nalidíxico, flumequine, enrofloxacin y ciprofloxacina (Piddock, 1999b). En forma similar en Gran Bretaña después de 1982, cuando otra fluoroquinolona llamada olaquinox fue introducida en las granjas de cerdos, hubo un agudo incremento en la frecuencia y en el nivel de resistencia a estas drogas en *Campylobacter* spp.

(Feinman, 1998). Se ha reportado un incremento en el número de cepas de *Campylobacter* resistentes a las fluoroquinolonas en España, Reino Unido, Canadá, Tailandia y Estados Unidos (Piddock, 1999b). En algunos casos la tasa de resistencia a las fluoroquinolonas fueron tan altas como 72 % para *Campylobacter* aislados de humanos, y 100 % los aislados de animales de pollos (Sáenz y col., 2000). Varios estudios han confirmado la relación entre cepas de *Campylobacter* spp. resistentes a las fluoroquinolonas aisladas de animales y de humanos (Beam, 1994, Gaunt y Piddock, 1996; Engberg y col., 2001), y la resistencia a las fluoroquinolonas en cepas de *Campylobacter* en animales es ahora reconocido como un problema emergente de Salud Pública (Engberg y col., 2001). Es interesante destacar que algunas de las cepas de *Campylobacter jejuni* y *C. coli* resistentes a la enrofloxacin fueron aisladas de seres humanos (Aarestrup y col., 1997).

Hay una relación similar entre la introducción de las fluoroquinolonas para su uso en animales productores de alimentos y la aparición de cepas resistentes de *Salmonella typhimurium* DT104 en Gran Bretaña, y variantes resistentes a fluoroquinolonas de *S. typhimurium* DT204c en Alemania (WHO, 1998).

En animales, así como en humanos, el uso de antibióticos causa un incremento de resistencia tanto en bacterias patógenas como en la flora endógena de estos animales. Esas bacterias resistentes de los animales pueden alcanzar o infectar a la población humana por contacto indirecto (efluentes, etc), o por vía de los alimentos de origen animal. Estos microorganismos pueden colonizar a las personas y transferir sus genes de resistencia a otras bacterias pertenecientes a la flora endógena humana. Además, cuanto mayor sea el número de este tipo de bacterias en los animales, mayor la probabilidad de que genes que codifican para resistencia sean transferidos a bacterias potencialmente patógenas, y diseminados desde los animales a los alimentos de ese origen. En ese sentido, debiera considerarse que la resistencia observada en patógenos zoonóticos y nosocomiales son sólo la punta del iceberg (van den Bogaard & Stobberingh, 1999).

No obstante la considerable controversia existente al respecto, la utilización de antimicrobianos en las prácticas corrientes de manejo animal es necesaria para el mantenimiento de la salud y el mejoramiento de la producción. La eliminación de los antibióticos de la medicina y producción animal sería una privación tanto inhumana como antieconómica para los productores y consumidores (Teske, 1993), y no harían más que reducir la productividad a niveles alarmantes en

regiones del planeta que las necesitan elevadas, aumentar el mercado negro y las fabricaciones ilegales y carentes de todo control, el contrabando y la pérdida de control sobre el flujo de antimicrobianos en el mundo, lo cual paradójicamente puede impactar negativamente en los niveles de resistencia antimicrobiana (Errecalde, 2004). Por eso, la única y clara salida para el problema que acabamos de tratar es el uso racional de los antimicrobianos por veterinarios o técnicos bien formados, la utilización de productos farmacéuticos de elevada calidad, y la asignación de recursos para la investigación farmacológica y para la educación y entrenamiento de todos los actores involucrados en la elaboración, comercialización, utilización, fiscalización y control de los productos fabricados en base a antimicrobianos (Errecalde, 2004).

### III.7. Farmacocinética de las quinolonas

Existen marcadas diferencias en el comportamiento farmacocinético de las fluoroquinolonas en las distintas especies animales, las cuales dependen principalmente de la droga y de la especie considerada. Sin embargo, algunas propiedades farmacocinéticas pueden aplicarse a todas las fluoroquinolonas. Tienen buena absorción oral (con la excepción de los rumiantes y probablemente de los equinos) y completa absorción parenteral; vidas medias relativamente largas; grandes volúmenes de distribución (2 a 4 litros/kg y aún más), y excelente penetración tisular (incluyendo fagocitos); y se eliminan mayormente por excreción renal y metabolismo hepático. El gran volumen de distribución y la escasa unión a las proteínas plasmáticas les permiten alcanzar concentraciones tisulares mayores que las plasmáticas (Giles y col.,1991; Dowling y col.,1995; Guiguère y col.,1996).

En estudios farmacocinéticos realizados en equinos (Giguère y col.,1996), ponies (Dowling y col.,1995), asnos (Lavy y col.,1995), bovinos (Giles y col.,1991; Aliabadi y Lees,1997b), ovinos (Muñoz y col.,1996; El-Sooud,2003; Haritova y col.,2003), cabras (Elsheikh y col.,2002; Rao y col.,2002a), búfalos (Kumar y col.,2003; Sharma y col.,2003), camellos (Gavrielli y col.,1995), cerdos (Anadón y col.,1995b; Friis y Nielsen,1997; Anadón y col.,1999), perros (Abadía y col.,1994; Abadía y col.,1995), gatos (Richez y col.,1997b), conejos (Broome y col.,1991; Cabanes y col.,1992), peces (Bowser y col.,1992) y aves (Anton y col.,1997; García Ovando y col.,1997a; Liu y Fung,1997; Martínez Larrañaga y col.,1997b), la disposición de las fluoroquinolonas se ajustó mejor a un modelo abierto bicompartimental luego de su administración I.V., y a un modelo abierto monocompartimental cuando se administró en forma oral.

Modelos tricompartmentales sirvieron para describir la farmacocinética en algunos terneros luego de la inyección I.V. (Aliabadi y Lees,1997b). En antílopes (*Oryx dammah*) (Gamble y col.,1997), el modelo que mejor se ajustó a la administración intravenosa fue el abierto monocompartimental.

Los valores de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin obtenidos tras la administración intramuscular se ajustaron mejor a un modelo abierto monocompartimental en terneros (Aliabadi y Lees,1997b), ovinos (Muñoz y col.,1996; Elsheikh y col.,2002), y cabras (Rao y col.,2001; Elsheikh y col.,2002), y bicompartimental en cerdos (Anadón y col.,1995b; Anadón y col.,1999).

En pollos, luego de su administración oral, la disposición de la enrofloxacin y de la norfloxacin se ajustó mejor a un modelo abierto de 2 compartimientos (Anadón y col.,1992; Anadón y col.,1995a; García Ovando y col.,1997a).

### III.7.1. Absorción

#### III.7.1.1. Absorción oral

Las fluoroquinolonas tienen muy buena biodisponibilidad por vía oral en todas las especies animales, a excepción de los rumiantes (Neer,1988; Vancutsem y col.,1990; Brown,1996). En equinos los resultados son contradictorios (Dowling y col.,1995; Giguère y col.;1996; Langston y col., 1996; Giguère y col.;1997).

Vancutsem y col. (1990) reportaron que el tiempo de aparición del pico de concentración plasmática ( $T_{max}$ ) de enrofloxacin administrada en forma oral a caballos, perros, pavos, pollos y terneros fué de 0.5, 0.9, 1.4, 2.5 y 5.4 horas, respectivamente.

En los rumiantes los niveles de actividad de la droga y la aparición de las máximas concentraciones son particularmente dependientes de la edad, del método de administración, de la formulación del principio activo, y del estado nutricional del animal (Scheer,1987b). Son bien conocidos los problemas de la administración oral en los rumiantes, relacionados principalmente a la complejidad y al gran volumen del aparato digestivo de estos animales, a la dilución de la droga con el fluido ruminal, a la unión a la ingesta, al lento pasaje hacia fuera del rumen y a la biodegradación por la flora de los preestómagos. Baja disponibilidad y/o baja absorción son las consecuencias más comunes (Mann y Frame ,1992; Lees y AliAbadi,2002) (Tabla 6).

<b>Tabla 6. Dosificación oral de drogas antimicrobianas en rumiantes</b>	
<b>Propiedad</b>	<b>Consecuencia</b>
La flora ruminal metaboliza muchas drogas	Baja biodisponibilidad
Efecto de dilución con el contenido ruminal	Baja biodisponibilidad y/o lenta absorción
Supresión de la población normal del rumen con y/o incremento de patógenos	Reducción en la tasa de fermentación y/o enfermedades

Adaptado de Lees y Aliabadi, 2002

Vancutsem y col. (1990) reportaron que la absorción oral de enrofloxacin en rumiantes adultos es pobre (aproximadamente del 10%), y que los terneros prerrumiantes presentan las mismas pautas de absorción oral que las especies monogástricas. Sin embargo, aún en terneros lactantes se prefiere la vía parenteral, y de ser necesaria la vía oral debe tenerse en cuenta que los minerales presentes en los sustitutos lácteos pueden producir la quelación del antimicrobiano (Vancutsem y col.,1990; Sumano López,1993). Por otra parte , se ha reportado una reducción temporaria de la densidad, viabilidad y actividad de los protozoos del rumen, con cierta depresión del metabolismo ruminal, luego de la administración oral de enrofloxacin (Sadiek,1996).

La administración de danofloxacin con la ración a bovinos resultó en concentraciones plasmáticas al nivel o por debajo del nivel de detección (0.05 µg/ml) a todos los tiempos ensayados (Mann y Frame,1992).

En ovinos la biodisponibilidad de la enrofloxacin fué baja luego de la administración oral (60,6 %), exigiendo el uso de dosis mayores por esta vía para alcanzar el éxito terapéutico (Pozzin y col.,1997). En forma similar, la biodisponibilidad oral de la enrofloxacin en camellos jóvenes y adultos fué de 58 % y 37 % respectivamente (Harron y col.,1997). En cabras, la biodisponibilidad de la enrofloxacin luego de su administración oral fue del 23 al 30 % (Elmas y col.,2000). Sin embargo, Bermingham y Papich (2002) informaron una biodisponibilidad oral de la enrofloxacin en ovejas de hasta un 98 %. En alpacas la absorción de la enrofloxacin fue muy pobre luego de la administración oral, con una disponibilidad sistémica menor al 30 % (Gandolf y col., 2005).

Los resultados en equinos son controversiales. Ensayos con dosificación oral realizados con norfloxacin en asnos (Lavy y col.,1995) y ciprofloxacin en ponies (Dowling y col.,1995) demostraron la poca eficacia de esta vía de administración en estas especies, debido a las bajas concentraciones séricas y tisulares alcanzadas, y a la pobre biodisponibilidad. La baja biodisponibilidad hallada en estas especies en contraste con la reportada en humanos, perros, terneros y cerdos probablemente se deba a diferencias en la fisiología digestiva o en el metabolismo hepático de la droga, a la inestabilidad de la droga en el tracto digestivo, o a su adsorción a las partículas de los alimentos (Dowling y col.,1995; Lavy y col.,1995). Sin embargo, en un ensayo la enrofloxacin fue rápida (aunque variablemente) absorbida por vía oral en caballos alimentados *ad libitum*, alcanzando concentraciones plasmáticas efectivas contra Enterobacterias (Langston y col.,

1996). Otros autores (Giguère y col.,1996; Giguère y col.,1997) reportaron una buena biodisponibilidad de la enrofloxacin por vía oral en equinos adultos, lográndose concentraciones mayores que en el plasma en fluidos y tejidos.

Luego de la administración oral, la biodisponibilidad de la enrofloxacin fue alta tanto en cerdos sometidos a ayuno como en los que estaban recibiendo alimentos en el momento de la administración (Gyrd-Hansen y Nielsen,1994; Nielsen,1997; Nielsen y Gyrd-Hansen,1997). Siempre que el consumo de alimentos no se encuentre afectado, la medicación a los cerdos con enrofloxacin en la ración provee, dentro de las 2 a 4 horas, concentraciones séricas y tisulares por encima de las CIM para muchos patógenos importantes en estos animales (Richez,1994a; Banholzer y col.,1997). Una dosis oral de 10 mg/kg de enrofloxacin asegura concentraciones plasmáticas terapéuticamente efectivas durante 24 horas contra los patógenos más frecuentes en esta especie (Nielsen,1997). Otros estudios han demostrado la buena absorción y alta biodisponibilidad de la enrofloxacin en cerdos luego de su administración en formulación especial con los alimentos (Richez y col.,1994a; Scheer y col.,1996).

En perros, la enrofloxacin fue rápidamente absorbida por esta vía, con una biodisponibilidad 72 % para Cester (1996), aproximadamente del 83 % para Monlouis y col. (1997) y cercana al 100 % para Küng y col. (1993). Las máximas concentraciones plasmáticas, con promedios que variaron entre 0.72 y 1.6 µg/ml, según dosis, fueron alcanzadas entre 1 y 2 horas luego de su administración oral (Walker y col.,1992; Küng y col.,1993; Cester y col.,1996; Stegeman y col.,1996; Heinen y col.,2002). Otros autores (Walker y col.,1992; Dorfman y col.,1995; Demanuelle y col., 1998; Hawkins y col.,1998) reportaron concentraciones tisulares terapéuticamente eficaces luego de la administración oral de enrofloxacin a perros.

La enrofloxacin es bien absorbida por la vía oral en gatos, con una biodisponibilidad de casi el 100 % (Richez,1997b).

Se encontró una considerable absorción cuando se administró enrofloxacin por vía oral a pollos, con una biodisponibilidad cercana al 60 % (Martínez Larrañaga y col.,1994; Anadón y col.,1995a; Abd El Aziz,1997), o mayor al 80 % (Kietzmann y col.,1997; Knoll y col.,1999).

Varios estudios han demostrado que durante la medicación continua con enrofloxacin en el agua de bebida se alcanzan concentraciones séricas y tisulares mayores a las CIM de los patógenos



relevantes en pollos (Ganière y col.,1997a; Scheer y col.,1997b; Charleston y col.,1998; Sumano y col.,1998), pavos (Delaporte y col.,1994; Heinen y col.,1997) y patos (Froyman y col.,1994). En patos, la biodisponibilidad fue del 68 % cuando se administró una dosis oral de enrofloxacin (Intorre y col.,1997).

En loros grises africanos (*Psittacus erithacus*) y en avutardas (*Chlamydotis undulata macqueenii*), la biodisponibilidad de la enrofloxacin fue del 51 % y 57 %, respectivamente, luego de la administración oral (Flammer y col.,1991; Bailey y col.,1997).

La biodisponibilidad de la enrofloxacin en truchas (*Oncorhynchus mykiss*), administrada a una dosis oral de 5 mg/kg, varió entre un 35 y un 42 %, según la temperatura del agua (Bowser y col.,1992). Buena absorción oral de enrofloxacin se observó en corvinas (*Dicentrarchus labrax*) (Intorre y col., 2000).

Al igual que ocurre con otros antibióticos, los alimentos generalmente retrasan la absorción oral de las fluoroquinolonas (Domínguez-Gil Hurlé y Sánchez Navarro ,1988; Brown,1996). Ya ha sido citada la baja biodisponibilidad de estas drogas cuando se administran con sustitutos lácteos a los terneros, debido probablemente a la acción quelante de los minerales presentes en estos sustitutos sobre estos antimicrobianos (Vancutsem *et al*,1990). En cerdos, la concentración plasmática máxima y la biodisponibilidad de la danofloxacin se redujeron en un 40 y 18 % respectivamente en animales recién alimentados comparados con otros en ayunas (Nielsen,1997). En humanos, además, la absorción de las fluoroquinolonas por vía oral está reducida por la ingestión concomitante de antiácidos que contienen magnesio, aluminio o cationes calcio, sucralfato, etc., y esto ha estado asociado a resultados terapéuticos pobres (Dudley,1991).

### III.7.1.2. Absorción parenteral

La biodisponibilidad a partir de los sitios de inyección es cercana al 100 % para todas las fluoroquinolonas, incluso cuando se administran a bovinos prerrumiantes y rumiantes (Brown,1996).

Scheer (1987b), en estudios del comportamiento farmacocinético de la enrofloxacin en terneros, cerdos, perros, gatos, pollos y pavos, reportó que en todos los ensayos la droga fué fácil y rápidamente absorbida luego de la administración parenteral. Las máximas concentraciones fueron alcanzadas, como regla general, dentro de las 0.5 a 2 horas.

En bovinos la enrofloxacin es extensamente absorbida luego de su administraci3n subcut3nea, con una biodisponibilidad mayor al 90 % (Richez y col.,1994b; Mckellar y col.,1997; Mart3nez Larrañaga y col.,1997a). En vacas lecheras la enrofloxacin se absorbi3 r3pidamente tanto por v3a I.M como S.C, alcanzando concentraciones plasm3ticas m3ximas similares para las dos v3as dentro de las primeras 4 horas. La biodisponibilidad fue del 82 % luego de la administraci3n I.M, y mayor al 100 % luego de la S.C.(Kaartinen y col.,1995). En terneros la absorci3n fue r3pida, con una biodisponibilidad sist3mica virtualmente completa, tanto por la v3a S.C. como I.M. (Richez y col.,1994b; Scheer y De Jong,1997).

En ovinos, la enrofloxacin fue r3pida y casi completamente absorbida y distribu3da luego de su inyecci3n I.M., con biodisponibilidad del 75,35 % (Haritova y col.,2003), 83 % (Elsheikh y col.,2002), 85 % (Mengozi y col.,1996) y 99 % (Pozzin y col.,1997).

En cabras, la biodisponibilidad de enrofloxacin luego de la administraci3n intramuscular se encontr3 entre un 90 y un 110 % (Elmas y col.,2001; Elsheikh y col.,2002; El-Sooud,2003). En camellos fue del 85 % y del 92 % luego de la administraci3n intramuscular y subcut3nea, respectivamente (Gavrielli y col.,1995).

En b3falos la absorci3n de enrofloxacin por fue r3pida, con una vida media de absorci3n de 0.62 horas (Verma y col.,1999).

En alpacas la absorci3n de la enrofloxacin fue buena luego de la administraci3n subcut3nea, con una biodisponibilidad del 90 %, pero fue muy pobre luego de la administraci3n oral con una disponibilidad sist3mica menor al 30 % (Gandolf y col., 2005).

La absorci3n por v3a I.M. es m3s lenta en equinos, aparentemente debido al efecto irritante del preparado sobre el sitio de inyecci3n (Py3r3l3 y col.,1994a). La inyecci3n I.V. lenta de nicotinato de norfloxacin a asnos estuvo asociada con efectos colaterales indicativos de irritaci3n nerviosa, tales como ataxia, estrabismo, convulsiones leves, sudoraci3n profusa y taquicardia, los que aparec3an dentro de los 30 segundos de la administraci3n y duraban 5-10 minutos. Por esa raz3n la norfloxacin debiera ser considerada como muy t3xica para uso I.V. rutinario en 3quidos. La ruta I.M. parece ser m3s id3nea, aunque la biodisponibilidad disminuy3 significativamente al aumentar la dosis, probablemente debido a irritaci3n y daño tisular en el sitio de inyecci3n (Lavy y col.,1995).

En cerdos, la administración intramuscular de enrofloxacin en esta especie animal permite una rápida absorción, con una biodisponibilidad que varió según autores desde un 78 % (Anadón y col.,1999) a más del 90 % (Pijpers y col.,1997; Zeng y Fung,1997).

La biodisponibilidad de la enrofloxacin en conejos fué del 77 % para la administración S.C. (Broome y col.,1991) y 92 % para la I.M. (Cabanés y col.,1992).

### **III.7.2. Distribución**

La unión de las quinolonas a las proteínas plasmáticas varía, siendo menor el porcentaje de unión para las quinolonas más nuevas (entre el 14 y el 40 % para las quinolonas fluoradas) que para el ácido nalidíxico (Dowling y col.,1995; Brown, 1996). En humanos, la unión a las proteínas del suero observadas in vitro es relativamente baja para la pefloxacin, norfloxacin, enoxacin y ciprofloxacina (Hooper y Wolfson ,1985) (Tablas 7 y 8).

Tabla 7. Unión de varias quinolonas a las proteínas del plasma en humanos

QUINOLONA	PORCENTAJE DE UNIÓN
ácido nalidíxico	>90 %
enoxacina	40 %
pefloxacina	25 %
ciprofloxacina	20-22 %
norfloxacina	10-15 %

(Hooper y Wolfson ,1985; Brown, 1996)

Tabla 8. Porcentajes de unión de quinolonas a proteínas plasmáticas en especies animales

	Ac. Nalidíxico	Ac. pipemídico	Flumequine	Enrofloxacina	Ciprofloxacina
<b>Bovinos</b>	98 ± 0.1	14 ± 1	70 ± 5	56 ± 4	31 ± 2
<b>Caballos</b>	86 ± 6	13 ± 4	58 ± 2	22 ± 2	38 ± 3
<b>Cerdos</b>	87 ± 6	16 ± 2	67 ± 3	27 ± 2	35 ± 0.1
<b>Perros</b>	93 ± 0.3	36 ± 1	79 ± 0.1	27 ± 2	44 ± 3
<b>Conejos</b>	89 ± 0.1	41 ± 4	52 ± 3	53 ± 1	33 ± 4
<b>Pollos</b>	50 ± 0.1	4 ± 2	28 ± 3	21 ± 0.1	30 ± 0.0

(Villa y col., 1997)

Las fluoroquinolonas penetran y alcanzan concentraciones intracelulares muy elevadas tanto en las células fagocíticas como en las no fagocíticas, con una gran actividad intracelular frente a un amplio rango de microorganismos (Brown,1996; Pascual y García,1998; Schoevers y col.,1999). La incorporación de las fluoroquinolonas por los macrófagos es rápida. En contraste con otros antimicrobianos que son activamente acumulados por las células fagocíticas, tales como la clindamicina y la eritromicina, las fluoroquinolonas no son secuestradas en localizaciones subcelulares. En lugar de ello, las drogas son distribuidas en el citosol, donde son capaces de interactuar con los organismos blanco inhibiéndolos o matándolos (Hawkins y col.,1998). Aumentan la capacidad antimicrobiana natural de las células fagocíticas, al mismo tiempo que disminuyen la virulencia de los patógenos (Aucoin, 1996). Se ha demostrado que la fagocitosis y la muerte intracelular de *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* es estimulada por la ciprofloxacina (Wetzstein y De Jong,1996). Las concentraciones intracelulares en leucocitos polimorfonucleares fueron 7 a 14 veces mayores que las encontradas en fluido extracelular (Brown,1996).

En líquido cefalorraquídeo las concentraciones alcanzadas varían de unas quinolonas a otras, siendo máximas para ofloxacina, intermedias para pefloxacina y mínimas para ciprofloxacina (Dominguez-Gil Hurlé y Sánchez Navarro,1988). En presencia de inflamación meníngea, la pefloxacina alcanzó concentraciones de un 44 % con respecto al suero, observándose una penetración similar para la pefloxacina en pacientes humanos con meningitis (Hooper y Wolfson,1985).

La danofloxacina es rápidamente absorbida luego de la administración intramuscular (I.M.) a bovinos y cerdos, alcanzando el pico de concentración plasmática a las 1.0-1.3 horas. La rápida absorción y la excelente biodisponibilidad luego de la administración intramuscular o subcutánea (S.C.) son comparables a las obtenidas por vía I.V. (Mann y Frame,1992). En un estudio similar, Giles y col. (1991) demostraron que la danofloxacina fué rápidamente absorbida en bovinos luego de la administración I.M. y S.C., y que la biodisponibilidad de la droga fué virtualmente completa para ambas vías (101 % y 94 % respectivamente) en relación a la I.V.

La biodisponibilidad de la norfloxacina fué del 106 % para terneros lactantes y 73 % para deslechados luego de la administración intramuscular (Gips y Soback,1996). En asnos La

biodisponibilidad de la norfloxacin fue baja (18.8%) y disminuía con la dosis, probablemente debido a la inflamación local en el sitio de inyección (Lavy y col.,1995).

La vida media terminal de las fluoroquinolonas en suero ( $t_{1/2}$ ) de humanos es relativamente larga, variando entre 3-4 horas para la norfloxacin y ciprofloxacina, a 6-7 horas para enoxacin y ofloxacin y 10-11 hs para pefloxacin (Hooper y Wolfson,1985). En animales normales, la vida media biológica ( $t_{1/2}$ ) de la mayoría de las fluoroquinolonas varía entre 3 y 6 horas (Brown,1996).

### III.7.2.1. Distribución de la ciprofloxacina

La ciprofloxacina fue bien absorbida luego de su administración oral a humanos, alcanzando un máximo nivel sérico entre 30 y 75 minutos, con una rápida distribución y una lenta fase de eliminación (Crump y col.;1983; Höffken y col.,1985; Wise y Donovan,1987). Un rasgo notable en la cinética de la ciprofloxacina en humanos es su alto volumen de distribución, el cual varió de 1.45 a 2.18 l/kg en un estudio, y de 2.10 a 2.66 l/kg en otro para la vía I.V. (con una media de 1.77 l/kg) , y de 3.04 a 3.53 para la oral, según la dosis (Wise y col., 1984; Höffken y col.,1985; Wise y Donovan,1987). Ese gran volumen de distribución en humanos sugiere una muy buena penetración a los tejidos (Wise y Donovan,1987). También indica que puede concentrarse en algunos órganos y ligarse a ciertos tejidos y células (Wise y col.,1984). El porcentaje medio de penetración de la ciprofloxacina en fluido peritoneal fue del 60 % con respecto a la concentración sérica dentro de los 30 minutos. Durante las subsecuentes 2.5 horas, los niveles peritoneales permanecieron iguales o levemente superiores a los correspondientes en el plasma, y el porcentaje medio de penetración a lo largo de todo el estudio fue del 95% (Wise y Donovan,1987).

Las concentraciones de ciprofloxacina en tejido prostático humano fueron de hasta un 200 % con respecto al pico plasmático (Hooper y Wolfson,1985); y en semen fue igual a la mitad de la del suero cuando se determinó poco tiempo luego de la administración, pero fue 10 veces mayor a las 12 y 24 horas (Brown,1996).

En pacientes humanos con meninges inflamadas los niveles de ciprofloxacina en LCR fueron mayores que en pacientes sanos (Wise y Donovan,1987).

En saliva se alcanzaron concentraciones que variaron entre el 30 al 52 % del pico sérico (Hooper y Wolfson,1985).

La ciprofloxacina administrada en forma intravenosa se distribuye rápidamente en los distintos tejidos animales, alcanzando volúmenes de distribución de 1.5 l/kg en ovejas (Muñoz y col.,1996) 2.5 l/kg en perros (Abadía y col.,1994) y 3.45 l/kg en ponies (Dowling y col.,1995). El pico de concentración de la droga en tejidos corporales de esta última especie ocurrió 1 hora luego de la administración I.V., excediendo las concentraciones plasmáticas hasta en 10 veces .Las concentraciones en LCR, líquido sinovial y humor acuoso fueron considerablemente menores que las del plasma. (Dowling y col.,1995).

Las concentraciones séricas de ciprofloxacina fueron mantenidas por encima de las CIM para los patógenos más comunes de los ovinos por un período de 8 horas, cuando se administró a una dosis de 7.5 mg/kg por vía I.M. (Muñoz y col.,1996).

#### III.7.2.2. Distribución de la norfloxacina

Luego de la administración oral de norfloxacina a humanos se alcanzan rápidamente concentraciones terapéuticas en suero y orina. La baja unión a las proteínas (14%) y la alta solubilidad en los lípidos resulta en un gran volumen de distribución, alcanzando fácilmente riñones, próstata, testículos, útero, cérvix, vagina, semen, bilis, suero y orina, con altas concentraciones de la droga en tejido renal y prostático con respecto a las del plasma (Stein,1987; Neer,1988;).

Las concentraciones en bilis variaron entre 3 y 7 veces las plasmáticas (Stein,1987).

Aunque se han hallado altas concentraciones en la sangre del cordón umbilical y en el líquido amniótico luego de la ingestión materna de norfloxacina, la droga no ha sido encontrada en leche materna ni en sangre neonatal (Stein,1987).

En perros indicaron la norfloxacina tiene un volumen de distribución de 1.47 l/kg, indicando buena penetración tisular (Brown,1996). Cuando se administraron 22 mg/kg por vía oral, la concentración de norfloxacina obtenida en el fluido extravascular estuvo por encima de la CIM para la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas frecuentemente aisladas de las infecciones de tejidos blandos en perros, incluyendo *P. aeruginosa* (Walker y col.,1989).

En asnos la vía intramuscular fué la más idónea para la administración de nicotinato de norfloxacina, debido a la baja biodisponibilidad que se obtiene por la vía oral, y a la toxicidad de la vía intravenosa. En esta especie, luego de la administración intramuscular de 20 mg/kg de nicotinato de

norfloxacin, se mantuvieron por 12 horas concentraciones séricas capaces de inhibir la mayoría de las bacterias gramnegativas aisladas de caballos (Lavy y col.,1995).

En cerdos a los que se administró norfloxacin en una dosis de 8 mg/kg I.M., las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzaron a la 1.5 hora, con buena disponibilidad sistémica (53.7 %) y rápida distribución a los tejidos. Las concentraciones tisulares (particularmente en pulmón) permiten asumir que este tratamiento es adecuado para muchas enfermedades de los cerdos, incluyendo la neumonía enzoótica (Anadón y col.,1995b).

En pollos, tras una administración oral o intramuscular simple de norfloxacin, la droga fué rápidamente absorbida, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas antes de la hora, y distribuyéndose muy bien en los tejidos (Anadón y col.,1992; Chen y col.,1994).

Algunos parámetros de la norfloxacin en especies animales domésticas se muestran en la Tabla 9.

Luego de la inyección intraperitoneal de norfloxacin a salmones (*Oncorhynchus kisutch*) a una dosis de 40 mg/kg, y a una temperatura ambiente de 10°C, se obtuvo en hígado y riñones una  $C_{max}$  aproximadamente 12 veces mayores que los valores de CIM, a un  $T_{max}$  de 4 h para riñones y 6 h para hígado. En músculos, la  $C_{max}$  fué de aproximadamente 9.5 veces mayor que los valores CIM, a un  $T_{max}$  de 6 h. Se mantuvieron dosis efectivas en hígado, riñones y músculos por 7 días (San Martín y col.,1997).

Tabla 9: Parámetros farmacocinéticos de la norfloxacin

Especie	Vía de administración	Dosis (mg/kg)	$T_{max}$ (horas)	$C_{max}$ ( $\mu$ g/ml)	Vd (L/kg)	Biodisponibilidad	Referencias
Cerdos	I.M.	8	1.46	1.11	3.44	53.7 %	Anadón,1995
Perros	ORAL	22	1.5	2.8	-	-	Walker,
Asnos	I.M.	20	1.12	3.85	-	18.8 %	Lavy,1995
Asnos	ORAL	20	1.25	0.38	-	6.4 %	Lavy,1995
Pollos	ORAL	8	0.22	2.89	-	57 %	Anadón,

$T_{max}$  : Tiempo en que se alcanza la máxima concentración;  $C_{max}$  : Máxima Concentración plasmática; Vd : Volúmen de distribución



### III.7.2.3. Distribución de la danofloxacin

En un ensayo realizado en bovinos por Giles y col. (1991) la danofloxacin fué rápidamente absorbida y mostró una biodisponibilidad virtualmente completa luego de su administración S.C. o I.M.. El volumen de distribución fué de 2-3 l/kg. La droga penetra y se concentra rápidamente en el tejido pulmonar, dando picos de concentración mayores a 4 veces la concentración en el plasma, y por encima de la CIM<sub>90</sub> para los aislados contemporáneos de los más importantes patógenos bacterianos respiratorios en Norte América y Europa.

Los resultados de un estudio similar demostraron que la danofloxacin se absorbe rápidamente luego de la administración parenteral a terneros y cerdos, alcanzando concentraciones pulmonares hasta 7 veces mayores que las encontradas en suero, y persistiendo por hasta 12 horas (Mann y Frame,1992).

En vacas lecheras, la penetración de la danofloxacin desde la sangre a la leche fue rápida y extensa, con concentraciones de la droga en la leche que excedían a las del suero dentro de las 2 a 3 horas y aún después, luego de su administración I.V. e I.M.. Concentraciones inhibitorias mínimas para la mayoría de los patógenos de la ubre fueron mantenidas en la leche por 8 a 10 horas luego de la inyección I.M. o I.V.. Las características farmacocinéticas de la danofloxacin en vacas lecheras son muy similares a las observadas en ovejas en lactancia, y la penetración dentro de la leche es similar a la reportada para enrofloxacin (Shem-Tov y col.,1997).

En un estudio en el cual se simuló una respuesta inflamatoria moderada en cajas tisulares implantadas a terneros, se determinó que los valores de C<sub>max</sub> para la danofloxacin fueron menores en el fluido de las cajas tisulares que en el plasma, pero los valores de ABC<sub>0-last</sub> fueron mayores. Esto probablemente refleje el mayor tiempo medio de residencia (TMR) de la droga en las cajas tisulares (McKellar y col.,1997).

En otro ensayo (Scheer y Dejong,1997a) se determinaron las concentraciones en tejidos de terneros inyectados por vía intramuscular con dosis terapéuticas de danofloxacin y enrofloxacin. Se observaron altas concentraciones por varias horas para ambas drogas en contenido y tejido intestinal, con valores picos entre 1 y 4 horas post-inyección. Estas concentraciones excedían marcadamente los niveles séricos. También se observaron altos niveles de estos antimicrobianos en pulmones, mientras que en mucosa y cartilago nasal fueron generalmente bajos. Este estudio

demostró que una simple inyección I.M. de cualquiera de estos compuestos resultaba en alta actividad antimicrobiana tanto en intestino como en tejidos pulmonares, los sitios más importantes de infección bacteriana.

Cuando se administró mesilato de danofloxacin a pollos parrilleros a una dosis oral de 5 mg/kg, la droga fué rápidamente absorbida, eficientemente distribuída a los tejidos, y eliminada más lentamente del pulmón que del plasma. Se alcanzaron  $C_{max}$  promedio de 1.85  $\mu\text{l/mL}$  a un  $T_{max}$  de 0.50 horas, con un volumen de distribución de 2.6 L/Kg. Las concentraciones en pulmones a las 24 hs fueron 3 veces las del plasma (Anadón y col.,1997).

#### III.7.2.4. Distribución de la enrofloxacin

Scheer (1987b), en un estudio llevado a cabo en bovinos, porcinos, perros, gatos, pollos y pavos, reportó que la enrofloxacin es rápida y completamente absorbida luego de la administración oral y parenteral, alcanzando una concentración máxima en suero entre 0.5 y 2 horas. Se dispersa en todos los órganos y tejidos, siendo la pauta de distribución muy similar en todas las especies estudiadas. Las mayores concentraciones fueron observadas casi sin excepción en el hígado y los riñones, y las menores en el cerebro. En la gran mayoría de los animales se encontraron concentraciones microbiológicamente efectivas, al menos tan altas como las CIM para muchas bacterias. Esto significa que agentes infecciosos clínicamente importantes tales como *E. coli*, y especies de *Salmonella*, *Klebsiella*, *Pasteurella* y *Haemophilus* estarían expuesto a concentraciones bactericidas por 24 horas.

Luego de la administración I.M. a terneros, se demostró la presencia del principio activo en todos los tejidos y fluidos muestreados, hallándose concentraciones mayores que en el suero -en algunos casos por un factor de 3- a la hora y después de 4 horas en pulmones, riñones, hígado, corazón, nódulos linfáticos y pared intestinal. Luego de 12 horas de la aplicación las concentraciones permanecían más altas en los tejidos que en el suero, con los mayores valores en bilis y orina, y luego, y en orden descendente, en hígado, riñones, corazón, pulmones y bazo. Las menores concentraciones se encontraron en cerebro (Scheer,1987b).

En un estudio en el cual se simuló una respuesta inflamatoria moderada en cajas tisulares implantadas a terneros, se determinó que los valores de  $C_{max}$  para la enrofloxacin (y sus

metabolitos) fueron menores en el fluido de las cajas tisulares que en el plasma; pero los valores de ABC fueron mayores. Esto probablemente refleje el mayor tiempo medio de residencia (TMR) de la droga en las cajas tisulares (McKellar y col.,1997). En otro ensayo (Scheer y Dejong,1997) se determinaron las concentraciones en tejidos de terneros inyectados por vía intramuscular con dosis terapéuticas de enrofloxacin. Se observaron altas concentraciones por varias horas contenido y tejido intestinal, con valores picos entre 1 y 4 horas post-inyección. Estas concentraciones excedían marcadamente los niveles séricos. También se observaron altos niveles del antimicrobiano en pulmones, mientras que en mucosa y cartilago nasal fueron generalmente bajos. Este estudio demostró que una simple inyección I.M. de este compuesto resultaba en alta actividad antimicrobiana tanto en intestino como en tejidos pulmonares, los sitios más importantes de infección bacteriana. Otros trabajos (Kaartinen y col.,1997b; McKellar y col.,1999) confirmaron la excelente distribución tisular de la enrofloxacin en terneros.

En vacas lecheras la enrofloxacin administrada por vía parenteral se distribuyó ampliamente en el cuerpo como lo indicó su volumen de distribución por encima de 1 litro/kg, y tuvo una vida media de eliminación de 5.90 hs para la vía I.M, y 5.6 hs para a S.C. La administración por estas dos vías se caracterizó por una absorción retrasada debido a la pronunciada irritación tisular causada por la droga, lo cual limitaba la eliminación (Kaartinen y col.,1995). La enrofloxacin fue mayormente metabolizada a ciprofloxacina. El pico sérico de ciprofloxacina se alcanzó a la hora luego de la inyección de enrofloxacin, y su concentración en plasma representó el 35 % en promedio con respecto a la concentración de la droga madre durante la fase de eliminación. El valor del área bajo la curva (ABC) en suero para la ciprofloxacina en relación a la enrofloxacin fue cercana al 30 % (Kaartinen y col.,1995; Malbe y col.,1996). El pico de concentración en leche para la enrofloxacin después de la administración I.V. se alcanzó a la hora como promedio, mientras que para su metabolito ciprofloxacina lo fue entre 5 a 8 hs. Las concentraciones de enrofloxacin en leche siguieron en forma paralela a las del plasma, encontrándose en ese fluido aproximadamente el 0.2 % de la dosis total durante las primeras 24 horas. El metabolito ciprofloxacina se concentró en la leche superando los niveles máximos del plasma. Eso significa que gran parte de la acción antimicrobiana se debe a la ciprofloxacina, lo cual es en cierto modo beneficioso ya que muchas bacterias Gra-

negativas tienen CIM menores para la ciprofloxacina. Los niveles de actividad antimicrobiana se mantuvieron por 12 horas para la vía I.V. y 24 hs para la I.M y S.C.(Kaartinen y col.,1995).

La demostración de niveles antibacterianos efectivos en leche luego del tratamiento S.C. o I.V., así como en LCR, muestran que las barreras sangre-leche y hematoencefálica son permeables a la enrofloxacin (Scheer,1987b).

Algunas variables farmacocinéticas del metabolito ciprofloxacina son diferentes cuando la enrofloxacin es administrada en forma intravenosa y en forma intramuscular. En particular, el hecho de que el  $T_{max}$ , TMR y ABC de la ciprofloxacina sean mayores luego de la administración intramuscular de la enrofloxacin, sugiere que una distribución más rápida de la droga madre a los tejidos luego de la administración intravenosa evitaría una mayor disponibilidad de la enrofloxacin para su biotransformación (Mengozi y col.,1996).

En cerdos la droga es rápidamente absorbida y ampliamente distribuída luego de la administración parenteral, con una eliminación bastante lenta (Pijpers y col.,1997; Richez y col.,1997a; Anadón y col.,1999). Se encontraron niveles evidentes altos de enrofloxacin en los pulmones, mucosa nasal, septo nasal, músculo, hígado, nódulos linfáticos y tejidos intestinales de cerdos luego de la administración intramuscular. (Scheer,1987b; Ganière y col., 1997a; Wiuff y col.,2002).

Luego de la administración intravenosa a caballos, la enrofloxacin fue ampliamente distribuída y lentamente eliminada (Kaartinen y col., 1997a). En contraste con la pobre biodisponibilidad de la norfloxacina administrada oralmente a asnos (Lavy y col.,1995) y ciprofloxacina a ponies (Dowling y col.,1995), otros autores reportaron que en caballos, luego de la administración intragástrica de enrofloxacin a dosis de 2.5 y 5.0 mg/kg, se alcanzaron los picos plasmáticos a las 1.0 y 1.25 horas respectivamente, y la biodisponibilidad fué de aproximadamente 60 % para ambas dosificaciones (Giguère y col.,1996). Luego de administraciones intragástricas múltiples se alcanzaron concentraciones superiores a las plasmáticas en líquido sinovial, tejido endometrial y orina. Las concentraciones alcanzadas en tejido endometrial -hasta tres veces las del plasma- excedieron las CIM para la mayoría de los microorganismos aerobios Gram-positivos y Gram-negativos, incluyendo los agentes microbianos más frecuentemente aislados de hembras con endometritis. Las concentraciones alcanzadas en orina fueron de 170 a 830 veces mayores que las

concentraciones concurrentes en el plasma. Estas concentraciones podrían ser efectiva en caballos adultos para el tratamiento de la artritis séptica, la endometritis y las infecciones del tracto urinario. Sin embargo, las concentraciones en líquido peritoneal fueron significativamente menores que las encontradas en suero y líquido sinovial; y las del LCR fueron de un 15 y un 25 % de las concurrentes en el plasma a las 74 y 84 horas respectivamente (Giguère y col.,1996).

En ovinos, los pocos trabajos realizados informan que la enrofloxacin se absorbe y se distribuye bien cuando se administra por vía parenteral, (Pugliese y col.,1991; Mengozzi y col.,1996; El-Sooud, 2003; Haritova y col.,2003).

En cabras se ha observado una buena distribución, pero los volúmenes de distribución son algo menores que en ovinos, con valores que van de 1 a 2 litros (Elmas y col.,2001; Rao y col.,2001; Elsheikh y col., 2002; Rao y col.,2002a; Rao y col.,2002b). Sin embargo, El-Sooud (2003) reporta  $Vd_{(ss)}$  y  $Vd_{(area)}$  de 4.61 y 7.30 L/kg, respectivamente.

Estudios realizados en búfalos han demostrado la excelente distribución de la enrofloxacin en esta especie luego de la administración parenteral, con volúmenes de distribución mayores a los 5 litros en algunos casos (Kumar y col.,2003; Sharma y col.,2003). Llamativamente, Verma y col. (1999) reportaron un volumen de distribución de 0.61 L/kg.

Cabe citar algunos especies rumiantes en las cuales el comportamiento farmacocinético es algo distinto. En antílopes (*Oryx dammah*), luego de la administración I.V., el volumen de distribución es bajo (0.8 L/Kg), teniendo en cuenta que en prácticamente todas las especies supera 1L/Kg. La vida media es muy corta –41 minutos- y las concentraciones efectivas contra los microorganismos se mantienen por sólo 2 a 4 horas a un nivel de dosificación de 1,3 mg/kg, haciendo necesaria una administración parenteral de al menos 1,6 mg/kg cada 8 horas para mantener concentraciones efectivas en plasma (Gamble y col.,1997).

En camellos, como es de esperar en un rumiante, la biodisponibilidad fué muy baja (Harron y col.,1997), o directamente no se detectó droga en plasma (Gavrieli y col.,1995) luego de la administración oral. Es interesante la observación de que en camellos con varios días de privación de agua, la absorción es escasa y biodisponibilidad baja luego de la administración subcutánea de la droga (Gavrieli y col.,1995), pero que por vía intramuscular se alcanzan mayores concentraciones plasmáticas en la primeras horas en estos animales que en los que no sufrieron privación (Ben

Ziv,1994). Otro dato interesante es que si bien la enrofloxacin penetró rápidamente en leche, la concentración de la droga fue menor que en plasma, tanto para la vía I.V. como I.M. (Gavrieli y col.,1995).

En llamas se demostró una excelente distribución de la enrofloxacin, con un volumen de distribución mayor a los 3 litros/kilo (Christensen y col.,1996).

La enrofloxacin es bien absorbida y rápidamente distribuida en perros. Tiene además una excelente biodisponibilidad. Esto, combinado con una tasa favorable de concentración tejido/plasma, los bajos valores de CIM y el efecto post-antibiótico, resulta en la buena eficacia de esta droga. Las altas concentraciones de enrofloxacin y su metabolito ciprofloxacina encontradas en orina demuestran la utilidad de esta droga para el tratamiento de las infecciones del tracto urogenital en los perros (Monlouis y col.,1997). Tiene una pronunciada difusión dentro de los tejidos y fluidos prostáticos, alcanzando concentraciones mayores que en el plasma (Brown,1996). Incluso en perros con prostatitis inducida en forma experimental, las concentraciones de enrofloxacin no parecen ser diferentes a las encontradas en perros sanos, y eran mayores a las CIM para casi todos los organismos asociados con infecciones del tracto urinario. A diferencia de la norfloxacina, ciprofloxacina y amifloxacina, las cuales penetran fácilmente el tejido prostático pero no alcanzan mayores concentraciones que las del plasma, la enrofloxacin se concentra en los tejidos y fluidos de ese órgano (Dorfman y col.,1995). En perros, las concentraciones de enrofloxacin y de su metabolito ciprofloxacina fueron mayores en los macrófagos alveolares (MA) que en el plasma, con una relación MA/plasma de 10.3 para enrofloxacin y 4.7 para ciprofloxacina, lo cual sugiere que el movimiento de la droga dentro de la célula no es simplemente el resultado de una difusión pasiva, sino que ocurre acumulación intracelular. La concentración media alcanzada en el fluido del epitelio pulmonar de revestimiento por la enrofloxacin fue 13.5 veces mayor que en el plasma. (Hawkins,1998). La concentración de enrofloxacin fue mayor en piel de perros con pioderma que en piel de perros sanos, y los niveles de la droga alcanzados a las 3 horas posteriores a la administración oral fueron suficientes para inhibir el agente causante de esta enfermedad (Demanuelle y col.,1998).

Sin embargo, las concentraciones pico de enrofloxacin en médula ósea de perros fueron aproximadamente del 29 % de las plasmáticas, siendo necesarias altas dosis para lograr efectos terapéuticos en osteomielitis causadas por *Pseudomonas* sp. (Duval y Budsberg,1995).

En gatos es bien absorbida y distribuída rápida y ampliamente, con una favorable relación entre las concentraciones tejidos/plasma (Richez y col.,1997b).

Las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin en conejos luego de la administración I.M. e I.V. fueron mayores que los valores de CIM medios necesarios para muchos microorganismos, indicando que por ambas vías se alcanzan concentraciones plasmáticas en un rango terapéutico. Además, la concentración plasmática máxima fué rápidamente alcanzada cuando la droga se administró en forma intramuscular, permaneciendo alta durante varias horas, y con una biodisponibilidad media del  $92 \pm 11$  % comparada con la vía I.V. (Cabanés y col.,1992). El volumen de distribución es alto en conejos, sugiriendo una fácil penetración a los tejidos (Cabanés y col., 1992; Aramayona y col., 1996). En leche de conejas lactantes se alcanzan concentraciones terapéuticas para la mayoría de los microorganismos sensibles a la enrofloxacin que pueden afectar la glándula mamaria (Aramayona y col.,1996). Asimismo, se alcanzaron altas concentraciones en placenta y buen pasaje a través de ella en esta especie, lo cual indica posibilidades terapéuticas así como posibles efectos tóxicos en el feto (Aramayona y col.,1994; Aramayona y col.,1996; Suckow,1996). La acumulación en el feto podría deberse tanto al pasaje transplacentario como a la incapacidad de eliminación de la droga desde el compartimiento fetal (Aramayona y col., 1994). Del mismo modo, la eliminación de la droga desde el neonato parece estar muy disminuída con respecto al lactante adulto, resultando en una mayor exposición que la predecida de los valores en leche por sí solos (Aramayona y col.,1996).

En pollos, luego de la administración oral y I.V., la droga tuvo una rápida fase inicial de distribución, seguida por una fase de eliminación más lenta. Fué rápida y ampliamente distribuída en el cuerpo, como lo evidenciaron sus altos volúmenes de distribución. La tasa de eliminación y el tiempo de aclaramiento total revelan una larga duración de la enrofloxacin en plasma (Anadón y col.,1995a; García Ovando y col.,1997a; García Ovando y col.,1999; Knoll y col.,1999). Kietzmann y col. (1997) y Knoll y col. (1999) determinaron que si bien el espectro antibacteriano de la enrofloxacin y la danofloxacin son similares, la enrofloxacin tuvo un mejor comportamiento

farmacocinético en pollos tratados por vía intravenosa u oral (directa o con el agua de bebida). La enrofloxacinina alcanzó altas concentraciones en tráquea, hígado, riñones y pared cecal.

Ganière y col. (1997b) demostraron que la medicación continua con enrofloxacinina en el agua de bebidas de pollos, a dosis adecuadas, permitía concentraciones estables de la droga en el plasma, muy por encima de las CIM para los patógenos aviarios.

En pavos la enrofloxacinina es rápidamente absorbida luego de su administración subcutánea. El pico plasmático se alcanzó en 1.5 horas y se distribuyó en los tejidos alcanzando tasas tejido/suero de 8.2, 4.3, 3.2, 3.2, 2.9 y 2.8 para hígado, riñones, pulmones, miocardio músculo esquelético y piel respectivamente. Del mismo modo, cuando se administró en el agua de bebida a una concentración de 50 ppm (alcanzando así una dosificación diaria de aproximadamente 10 mg/kg), se obtuvieron niveles antibacterianos eficaces, que en los tejidos fueron de al menos el doble de los correspondientes en el plasma. En tejidos blanco las concentraciones de enrofloxacinina excedieron las CIM<sub>90</sub> para los patógenos aviares relevantes (Heinen y col., 1997).

Se demostró la permanencia de niveles efectivos del principio activo por hasta 6-8 días (11-12 en yema) en huevos de pavos en incubación luego del tratamiento de los planteles de reproductores con enrofloxacinina en el agua de bebida (Delaporte y col., 1994). Ello contribuiría a inhibir la transmisión vertical de patógenos importantes como *Mycoplasma gallisepticum* y *M. iowae* (Jordan y col., 1993; Delaporte y col., 1994).

El tratamiento de planteles, ya sea por inyección intramuscular, administración oral directa en el buche, o a través del agua de bebida, permite alcanzar concentraciones séricas y tisulares suficientemente altas como para ser efectivas en el control de muchas enfermedades infecciosas en patos (Intorre y col., 1997)

En avutardas (*Chlamydotis undulata macqueenii*) la vida media de la enrofloxacinina fue similar a la reportada en pavos (4-6 h), pero mayor que la reportada en palomas (3-4 h); y la biodisponibilidad fue del 57,4 % y 90.3 % para las vías oral e intramuscular respectivamente (Bailey y col., 1997). Se han alcanzado niveles efectivos del principio activo contra los patógenos sensibles luego de la administración parenteral a emus (*Dromaius novaehollandiae*) (Helmick y col., 1997).

En truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), la biodisponibilidad de la enrofloxacinina luego de la administración oral promedió el 42 % para todas las dosis a 15° de temperatura ambiente,



disminuyendo a un 25 % a 10 grados de temperatura. La droga se distribuyó ampliamente y se eliminó muy lentamente, con un tiempo medio de residencia (TMR) mayor a 50 horas, alcanzando concentraciones séricas mayores a las CIM de los microorganismos más sensibles (Bowser y col.,1992).

En salmones se observó una biodisponibilidad similar (46 %) y una prolongada vida media (48 h) luego de una dosis oral de enrofloxacin de 5 mg/kg. La droga se distribuyó ampliamente a los tejidos por períodos prolongados de tiempo, alcanzando en piel una  $C_{max}$  mayor a 1  $\mu\text{g}$  a las 110 horas (Stoffregen y col.,1997).

Resultados similares hallaron Lewbart y col. (1997) en peces de ornamentación (*Colossoma brachypomum*). La vida media de eliminación de la enrofloxacin luego de la administración intramuscular fue de 28.9 h, y se alcanzó una  $C_{max}$  que excedía hasta en 10 veces la CIM de los 20 patógenos más frecuentes en estos peces, con concentraciones superiores a la CIM de bacterias gramnegativas 48 horas después de la administración.

Los resultados de un estudio del comportamiento farmacocinético de la enrofloxacin administrada en forma oral a corvinas, mostraron que esta droga se distribuye eficientemente en los tejidos, alcanzando concentraciones terapéuticas tanto en éstos como en el plasma (Intorre y col.,2000).

En delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*) se estudió el comportamiento farmacocinético de la enrofloxacin administrada oralmente a una dosis de 5 mg/kg. La droga fue administrada en forma de píldoras intactas dentro de peces enteros que forman parte de la ración diaria de los delfines, luego de un ayuno de 12 horas. Esta particular forma de administración, y las características digestivas propias de estos mamíferos (existencia de un compartimiento preestómago) hicieron que la  $C_{max}$  se alcanzara recién a las 4 horas. Aún así, las concentraciones plasmáticas y el tiempo de residencia de la droga permiten tratamientos cada de 24 horas frente a las bacterias comúnmente aisladas de esta especie (CIM < 0.14  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Sin embargo, para microorganismos con CIM mayores como *Pseudomonas* spp., o en infecciones que comprometan la vida, es necesario aumentar la dosis y disminuir el intervalo entre administraciones, o bien optar por otras vías de administración (Linnehan y col.,1999).

Se han observado características farmacocinéticas favorables luego de la administración I.M. (5mg/kg) en tortugas (*Geochelone elegans*), con concentraciones plasmáticas máximas (3.59 µg/mL) rápidamente alcanzadas (0.5 h) y mantenidas por encima de las CIM de patógenos habituales en quelónidos por hasta 24 horas (Raphael y col.,1994). Con la misma vía de administración y dosis se alcanzó una  $C_{max}$  de 2.43 µg/mL a 1 h post-inyección, con una vida media aparente de eliminación de 23 horas (Prezant y col.,1994).

#### III.7.2.5. Distribución de otras fluoroquinolonas

Las características farmacocinéticas de la ofloxacin fueron comparadas con otras fluoroquinolonas (enrofloxacin, norfloxacin) en pollos. Esta droga demostró una absorción más rápida y completa, una amplia distribución y lenta eliminación luego de la administración oral y parenteral. El comportamiento farmacocinético de la ofloxacin en pollos sanos e infectados experimentalmente con *Mycoplasma gallinarum* y *E. coli*, luego de la dosificación oral, no tuvo diferencias significativas (Liu y Fung ,1997).

Martínez Larrañaga y col. (1997b) evaluaron la marbofloxacin en pollos, determinando que su comportamiento farmacocinético, al igual que las otras fluoroquinolonas, se ajustaba mejor a un modelo abierto bicompartimental luego de su inyección I.V.. Los parámetros farmacocinéticos mostraron que una relativamente prolongada vida media de la marbofloxacin en pollos se correlacionaba bien con su potencia antibacteriana, y que las concentraciones plasmáticas eran importantes cuando se evaluaba su utilidad terapéutica.

Las concentraciones de marbofloxacin fueron similares en trasudados y exudados inducidos experimentalmente en terneros mediante el implante de cajas tisulares. El aclaramiento desde estos fluidos fué más lento que desde el suero. Luego de la administración I.M. las concentraciones de marbofloxacin fueron bactericidas contra *P. haemolytica* por 12 horas en el suero, 24 horas en el trasudado y 36 horas en el exudado (Aliabadi y Lees,1997b).

Anton y col. (1997) confirmaron que la fleroxacin es bien distribuída a los tejidos en pollos. La vida media terminal ( $t_{1/2\beta}$ ) fué más corta que la reportada para otras fluoroquinolonas en esta especie.

### III.7.3. Metabolismo y excreción

Las fluoroquinolonas son eliminadas del organismo principalmente por excreción renal, metabolismo hepático, o ambos (Vancutsem y col.,1990; Dudley,1991). Por lo general son parcialmente metabolizadas en el hígado y excretadas en bilis y orina con altas concentraciones de droga activa, ya sea droga inalterada o metabolito activo (Neer,1988).

#### III.7.3.1. Metabolismo

El metabolismo de las fluoroquinolonas es altamente variable. Es en él donde se observan las diferencias más significativas en el comportamiento farmacocinético de estos antimicrobianos (Vancutsem y col.,1990; Brown,1996; Giguère y col.,1996). La pefloxacina, por ejemplo, es metabolizada casi en su totalidad y sólo se excreta en orina en un 5 % aproximadamente, mientras que la ofloxacina apenas se metaboliza, eliminándose casi totalmente por vía renal (Hooper y Wolfson,1985; Domínguez-Gil Hurlé y Sánchez Navarro,1988; Vancutsem y col.,1990; Brown,1996). Otras quinolonas, como la ciprofloxacina o la norfloxacina, se metabolizan en un 40-50 % (Domínguez-Gil Hurlé y Sánchez Navarro,1988).

La Tabla 10 muestra el número de metabolitos formados en el organismo a partir de algunas quinolonas, así como el porcentaje de dosis excretada en orina en forma de producto inalterado en humanos.

En general, la fase I del metabolismo ocurre principalmente a través de la hidroxilación y oxidación. Las rutas metabólicas destacables incluyen la oxidación del anillo piperazínico a oxo-metabolitos, los principales metabolitos de la ciprofloxacina, enoxacina y norfloxacina, como así también la sulfoxidación y la acetilación (Brown,1996). La Tabla 11 muestra los mecanismos primarios implicados en el metabolismo de las fluoroquinolonas (Brown,1996).

Tabla 10. Metabolismo y excreción de quinolonas

Quinolona	Número de metabolitos	% excretado en orina inalterado
Acido Nalidixico	2 + glucurónidos	< 20
Pefloxacina	2	5
Norfloxacina	6	30
Ciprofloxacina	4	30-50
Enoxacina	5	30-50
Cinoxacina	1 + conjugados	50-60
Acido Pipemidico	3	50-70
Ofloxacina	glucurónido (trazas)	80

(Domínguez-Gil Hurlé y Sánchez Navarro , 1988)

Tabla 11. Mecanismos primarios de metabolismo de las fluoroquinolonas

Mecanismo	Ejemplo
Oxidación del Anillo piperazínico	Norfloxacina --> oxonorfloxacina
N-dealkilación	Enrofloxacina --> ciprofloxacina pefloxacina --> norfloxacina
Hidroxilación	Acido nalidíxico --> Acido hidroxinalidíxico
Glucuronidación	Norfloxacina-->norfloxacina glucurónido
Sulfoxidación	Ciprofloxacina -->sulfuciprofloxacina
Acetilación	Norfloxacina --> N-acetilnorfloxacina

(Brown, 1996)

En humanos la ciprofloxacina tiene el metabolismo como tercera ruta de eliminación, responsable del 12 % de una administración endovenosa. Los principales metabolitos son: (a) sulfociprofloxacina (5.5 % de la dosis en materia fecal, 3.7 % en orina; (b) oxo-ciprofloxacina (1.1% en heces, 6.2% en orina) ; y (c) desetilen-ciprofloxacina (0.5 % en heces, 1.4 % en orina). Además se ha encontrado un formil-metabolito en ínfima cantidad (Wise y Donovan,1987). La tasa de metabolitos/droga sin cambios más metabolitos en orina se incrementaba un 44 % cuando la droga era dada en forma oral en vez de intravenosa, sugiriendo algún grado de metabolismo hepático de primer paso (Hooper y Wolfson,1985).

En pollos, la norfloxacina fué principalmente convertida a desetilen-norfloxacina y oxo-norfloxacina (Anadón y col.,1992).

Los metabolitos oxidados (como muchos de los N-demetilados) tienen alguna actividad antibacteriana, mientras que los conjugados glucurónicos están desprovistos de actividad (Brown,1996).

Sin embargo, la mayoría de los metabolitos de las fluoroquinolonas tienen menos actividad antibacteriana que las drogas madres (Wolfson y Hooper,1985), y aquellos metabolitos primarios con buena actividad contra los microorganismos tienen una semivida de eliminación más corta que los compuestos que le dieron origen (Vancutsem y col.,1990).

La enrofloxacin se metaboliza parcialmente a ciprofloxacina, la cual es responsable de una considerable parte de la actividad antimicrobiana (Küng y col.,1993; Kaartinen y col.,1995; Anadón y col.,1995; Mengozzi y col.,1996). 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), donde la enrofloxacin es de-etilada a ciprofloxacina (Brown,1996). El efecto de primer paso hepático es bajo, aproximadamente del 7 % (Cester y Toutain,1997). Las concentraciones plasmáticas del metabolito con respecto a la droga madre (ABC concentración-tiempo) fueron de 35-55 % en ovejas (Mengozzi y col.,1996), 29 % en vacas (Malbe y col.,1996) y 25 % en terneros (Richez y col,1994b). Otros autores han encontrado valores similares en cabras. En esta especie se ha reportado conversión metabólica de enrofloxacin a ciprofloxacina en porcentajes que varían entre un 34 % y 36 % para la vía intramuscular (Rao y col.,2001; Rao y col.,2002b), y entre 24 % y 28 % (Rao y col.,2000; Rao y col.,2002a) luego de la inyección subcutánea.

Algunos autores reportaron una baja la tasa de conversión de enrofloxacin a ciprofloxacina en cerdos (Nielsen y Gyr-Hansen,1997) al igual que en algunos peces (Intorre y col.,2000).

Algunas variables farmacocinéticas del metabolito ciprofloxacina son diferentes cuando la enrofloxacin se administra I.M. o I.V. En particular, el hecho que  $T_{max}$ , TMR y ABC de ciprofloxacina fueran mayores luego de la administración I.M. , sugiere que una distribución más rápida de la droga madre a los tejidos luego de la inyección intravascular puede evitar una mayor biodisponibilidad hepática para el metabolismo de la enrofloxacin (Mengozi y col,1996). Por otra parte, la  $t_{1/2\beta}$  y el TMR de la enrofloxacin y su metabolito ciprofloxacina no difieren en mucho con la administración I.M. y S.C., pero la diferencia fue significativa comparada con la vía intravenosa (Kaartinen y col.,1995).

### III.7.3.2. Excreción

La excreción renal de las quinolonas en animales es variable, aunque ocurre filtración glomerular para la fracción no ligada de todas las fluoroquinolonas. También ocurre secreción tubular activa por un transportador orgánico aniónico (Brown,1996). La filtración glomerular y la secreción tubular permiten alcanzar altas concentraciones urinarias (Vancutsem y col.,1990).

En humanos se ha demostrado que en ausencia de fallo renal, el aclaramiento renal de la norfloxacina, enoxacina y ciprofloxacina exceden las tasas de filtración glomerular normales por un factor superior a dos, lo cual sugiere una secreción tubular adicional (Hooper y Wolfson,1985).

El proceso de secreción tubular es sensible al probenecid (McKellar,1996). Debido a que la excreción renal constituye una importante vía de eliminación para todas las quinolonas, es evidente que la insuficiencia renal puede modificar el comportamiento cinético de estos compuestos (Domínguez-Gil Hurlé y Sánchez Navarro,1988).

Sin embargo existen grandes diferencias en los porcentajes de dosis excretados por orina en forma de producto inalterado (Tabla 11), lo que se traduce en una gran variación en las concentraciones máximas de los mismos que se alcanzan en orina (Domínguez-Gil Hurlé y Sánchez Navarro,1988).

Por otra parte, las fluoroquinolonas difieren en la medida en que los mecanismos de excreción no renales contribuyen a la eliminación de la droga (Hooper y Wolfson,1985).

Los conjugados glucurónicos de las fluoroquinolonas pueden ser excretados por orina o por bilis, dependiendo del compuesto y de la especie a la cual han sido administrados (Brown,1996).

En el hombre la vía biliar contribuye parcialmente a la eliminación de algunas quinolonas. Concretamente pefloxacina, ciprofloxacina y norfloxacina utilizan esta vía (Domínguez-Gil Hurlé y Sánchez Navarro,1988).

En los animales, el porcentaje de eliminación a través de la bilis varía entre las especies (Vancutsem y col.,1990).

Los datos de un reciente trabajo sobre el comportamiento farmacocinético de la trovafloxacina en animales sugiere que la eliminación de esta droga en las ratas, y posiblemente en perros y monos, es principalmente a través de la secreción biliar (Teng y col.,1996).

Se ha sugerido que la ciprofloxacina puede ser excretada además por eliminación transepitelial activa hacia la luz del intestino (Brown,1996). La eliminación transepitelial a través de la pared gastrointestinal genera altas concentraciones en sitios de colonización de bacterias patógenas, e indudablemente contribuye a la alta eficacia de estos antimicrobianos en las enteritis bacterianas (McKellar,1996).

Por otra parte, existen indicios de que puede ocurrir circulación enterohepática de fluoroquinolonas (Brown,1996). En perros, por ejemplo, la premafloxacina parece sufrir reciclaje enterohepático luego de la administración oral e intravenosa (Caputo y col.,1997).

Como ocurre en la mayoría de las especies animales a excepción del hombre, las enzimas responsables de la metabolización de xenobióticos no están presentes o tienen muy escasa actividad al nacimiento, desarrollándose posteriormente en diferentes etapas de la vida. El aclaramiento corporal calculado para la enrofloxacina dá cuenta solamente del 20 % en conejos neonatos, comparados con lactantes adultos. De hecho, se ha reportado deficiente desarrollo de las enzimas microsomales durante el primer mes de vida en los conejos (Aramayona y col.,1996).

#### III.7.4. Farmacocinética de las quinolonas en la enfermedad

En perros con prostatitis inducida en forma experimental, las concentraciones de enrofloxacin no parecen ser diferentes a las encontradas en perros sanos, y eran mayores a las CIM para casi todos los organismos asociados con infecciones del tracto urinario (Dorfman y col.,1995).

Tampoco existieron diferencias significativas entre los parámetros farmacocinéticos de terneros sanos y febriles tratados con enrofloxacin (Ahangar y Srivastava, 2000).

Sin embargo, las características farmacocinéticas de la enrofloxacin luego de la administración oral, intramuscular e intravenosa fueron diferentes en cerdos sanos y en cerdos infectados con *E. coli*. En los cerdos infectados fué mayor la vida media de eliminación y menor el aclaramiento total. La mayor concentración de la droga en el plasma de cerdos infectados se debió probablemente a un reducido volumen de distribución, y a una eliminación y aclaramiento total más lentos. Los cambios significativos en estos parámetros probablemente se debieron al daño en las funciones renales y hepáticas. Estos resultados sugieren que la absorción de enrofloxacin desde el tracto intestinal es rápida y completa tanto en cerdos infectados como sanos. La distribución más lenta, el aclaramiento total disminuído y el incremento en la vida media de eliminación podría explicar porqué las ABC fueron mucho mayores en cerdos infectados que en cerdos sanos (Zeng y Fung,1997).

Los parámetros farmacocinéticos de la marbofloxacin en perros con insuficiencia renal moderada inducida experimentalmente fueron similares a los reportados en perros sanos. Sólo una leve acumulación de marbofloxacin -sin relevancia biológica- se registró en perros con función renal deteriorada luego de 1 semana de terapia antimicrobiana. Una posible explicación para la ausencia de efectos del fallo renal sobre la disposición de marbofloxacin podría ser una eliminación aumentada a través del metabolismo hepático (Lefebvre y col.,1997).

El comportamiento farmacocinético del nicotinato de norfloxacin fué significativamente diferente en vacas con mastitis clínicas y subclínicas con respecto a vacas sanas. La vida media y el volumen de distribución disminuyen en forma significativa, mientras que el aclaramiento aumenta. Además, disminuyen mucho las concentraciones de norfloxacin en los cuartos mastíticos (Gips y Soback,1997).



La farmacocinética de la danofloxacin y la disposición en pulmones no fueron dramáticamente alteradas en terneros con neumonía comparado con terneros sanos, aunque los volúmenes de distribución fueron un poco más grandes en los primeros (Brown, 1996).

En cerdos con neumonía inducida experimentalmente, la danofloxacin alcanzaba volúmenes de distribución y áreas bajo la curva concentración-tiempo (ABC) en tejidos mayores que en cerdos sanos. Estos cambios pueden ser atribuidos a alteraciones hemodinámicas. La eliminación es más lenta en cerdos neumónicos, y puede ser explicado por una reducida capacidad metabólica durante la infección. Así, los rasgos farmacocinéticos favorables de la danofloxacin en animales sanos se mantuvieron en los enfermos, y en algún punto fueron aún mejores (Friis y Nielsen, 1997).

#### **III.7.5. Parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin en distintas especies animales**

Los principales parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin en distintas especies animales se muestran en las tablas 12 y 13.

**Tabla 12: Algunos parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin en especies domésticas (se tomaron valores medios de cada ensayo, sin considerar desvío estándar)**

<b>Especie</b>	<b>Dosis y vía</b>	<b>C<sub>max</sub></b> ( $\mu\text{g/ml}$ )	<b>T<sub>max</sub></b> (horas)	<b>ABC</b> $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$	<b>t<sub>1/2</sub></b> (h)	<b>TMR</b> (h)	<b>Clearance</b> $\text{ml/min/kg}$	<b>Referencias</b>
<b>RUMIANTES</b>								
Bovinos	5 mg/Kg I.V.	-	-	7.4	1.09	4.28	21	Malbe y col., 1996
Bovinos	5 mg/kg I.M.	0.73	2.40	6.10	5.90	7.98	-	Kaartinen y col., 1995
Bovinos	5 mg/kg S.C.	0.98	3.20	9.62	5.55	8.4	-	Kaartinen y col., 1995
Bovinos	2.5mg/kg I.V.	-	-	5.28	2.82	1.83	8.1	Bregante y col., 1999
terneros	2.5mg/kg S.C.	0.24	1.75	1.4	-	5.52	-	McKellar y col., 1999
Terneros	2.5mg/kg I.V.	-	-	6.73	4.87	6.07	6.5	Kaartinen y col., 1997b

Especie	Dosis y vía	C <sub>max</sub> (µg/ml)	T <sub>max</sub> (horas)	ABC µg·h/ml	t <sub>1/2</sub> (h)	TMR (h)	Clearance ml/min/kg	Referencias
<b>RUMIANTES</b>								
Ovinos	2.5mg/kg I.V.	-	-	5.47	3.73	5.36	9.17	Mengozzi y col., 1996
Ovinos	5 mg/kg I.V.	-	-	9.41	3.26	-	8.86	Elsheikh y col, 2002
Ovinos	2.5 mg/kg I.V.	-	-	4.19	3.30	4.81	10.05	Haritova y col., 2003
Ovinos	2.5 mg/kg I.V.	0.74	0.83	3.11	3.87	4.52	-	Haritova y col., 2003
Ovinos	2.5 mg/kg I.V.	-	-	8.98	2.5	3.22	4.6	Bregante y col., 1999
Ovinos	5 mg/kg I.M.	1.29	1.96	7.86	3.53	5.13	-	Elsheikh y col, 2002
Ovinos	2.5mg/kg I.M.	0.78	1.25	4.58	3.65	5.23	10.33	Mengozzi y col., 1996

**Especie**      **Dosis y**      **C<sub>max</sub>**      **T<sub>max</sub>**      **ABC**      **t<sub>1/2</sub>**      **TMR**      **Clearance**      **Referencias**  
**Via**      (**µg/ml**)      (**horas**)      (**µg·h/ml**)      (**h**)      (**h**)      (**ml/min/kg**)

**RUMIANTES**

Cabras	5 mg/kg I.V.	-	-	6.71	1.14	1.5	13.5	Rao y col., 2000
Cabras	2.5 mg/kg I.V.	-	-	1.92	0.73	0.97	22.19	Rao y col., 2002*
Cabras	5 mg/kg I.V.	-	-	7.72	2.73	-	11.72	Elsheikh y col, 2002
Cabras	5 mg/kg I.V.	-	-	2.36	2.39	2.73	1.67	El-Sooud, 2003
Cabras	5 mg/kg I.M.	0.68	1.08	2.60	1.51	2.94	-	El-Sooud, 2003
Cabras	5 mg/kg I.M.	1.33	1.85	7.55	2.62	4.67	-	Elsheikh y col, 2002
Cabras	5 mg/kg I.M.	1.13	0.80	2.09	0.74	1.54	22.15	Rao y col., 2001
Cabras	5 mg/kg I.M.	2.8	0.88	7.82	1.39	2.37	13.38	Rao y col., 2002b

**Especie**      **Dosis y**      **C<sub>max</sub>**      **T<sub>max</sub>**      **ABC**      **t<sub>1/2</sub>**      **TMR (h)**      **Clearance**      **Referencias**  
**Via**      (**µg/ml**)      (**horas**)      (**µg·h/ml**)      (**h**)      **ml/min/kg**

**RUMIANTES**

Búfalos	4 mg/kg I.V.	-	-	2.37	2.92	3.05	32.4	Kumar y col., 2003
Búfalos	5 mg/kg I.V.	-	-	3.10	2.87	3.89	27.8	Sharma y col., 2003
Búfalos	5 mg/kg I.M.	0.49	0.85	3.8	5.63	6.31	22.25	Sharma y col., 2003
Búfalos	5 mg/kg I.M.	10.2	0.75	21.5	1.97	3.13	32.4	Verma y col., 1999
Camellos	2.5mg/kg I.V.	-	-	18.95	3.6	4.35	4.61	Gavrielli y col., 1995
Camellos	2.5mg/kg I.V.	-	-	29.31	5.76	-	-	Harron y col., 1997
Camellos	2.5mg/kg I.M.	2.09	4.33	31.01	7.51	-	-	Harron y col., 1997
Llamas	5 mg/kg I.V.	-	-	6.95	3.38	4.95	11.66	Christensen y col., 1996

C<sub>max</sub> : máxima concentración plasmática; T<sub>max</sub> : tiempo en que se alcanza la máxima concentración ; t<sub>1/2</sub> β : semivida de eliminación; TMR : tiempo medio de residencia; ABC: área bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo.

<b>Tabla 13: Algunos parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin en especies domésticas (se tomaron valores medios de cada ensayo, sin considerar desvío estándar)</b>								
<b>Especie</b>	<b>Dosis y vía</b>	<b>C<sub>max</sub></b> ( $\mu\text{g/ml}$ )	<b>T<sub>max</sub></b> (horas)	<b>ABC</b> $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$	<b>t<sub>1/2</sub></b> (h)	<b>TMR</b> (h)	<b>Clearance</b> ml/min/kg	<b>Referencias</b>
<b>NO RUMIANTES</b>								
Equinos	5 mg/kg PO	1.85	0.92	18.94	7.75	5.75	-	Langston y col., 1996
Equinos	5 mg/kg I.V.	-	-	13.2	4.4	5.1	8.5	Pyörälä y col., 1997
Cerdos	2.5 mg/kg I.V.	-	-	6.73	16	16	5.93	Richez y col., 1994a
Cerdos	2.5 mg/kg I.V.	-	-	25.69	9.64	12.77	1.66	Anadón y col., 1999
Cerdos	2.5mg/kg I.V.	-	-	7.94	7.73	9.75	4.45	Richez y col., 1997a
Cerdos	2.5 mg/kg I.V.	-	-	5.03	5.51	6.66	-	Pijpers y col., 1997
Cerdos	5 mg/kg I.V.	-	-	14.5	-	11	6.16	Nielsen y Gyrd-Hansen, 1997
Cerdos	2.5mg/kg I.M.	0.61	2.25	7.53	13.12	19.16	3.97	Richez y col., 1997a
Cerdos	2.5mg/kg I.M.	0.79	1.12	5.48	4.06	-	-	Zeng y Fung, 1997
Cerdos	5 mg/kg I.M.	1.4	4.8	24.4	-	18.1	-	Nielsen y Gyrd-Hansen, 1997
Cerdos	2.5 mg/kg I.M.	1.17	1.81	19.18	12.06	17.15	1.66	Anadón y col., 1999
Cerdos	2.5mg/kg I.M.	0.61	2.25		13.12	19.16		Richez y col., 1997a
Cerdos	2.5 mg/kg P.O.	0.23	8	4.82	11.7	21	-	Richez y col., 1994a
Perros	5 mg/kg PO	1.44	1.8	7.24	2.7	4.5	10.21	Monlouis y col., 1997

Especie	Dosis y vía	C <sub>max</sub> (µg/ml)	T <sub>max</sub> (horas)	ABC µg·h/ml	t <sub>1/2β</sub> (h)	TMR (h)	Clearance ml/min/kg	Referencias
<b>NO RUMIANTES</b>								
Perros	5 mg/kg I.V.	-	-	8.24	4.4	5.4	10.88	Monlouis y col., 1997
Perros	5.5 mg/kg P.O.	1.36	1.71	7.87	5.79	-	-	Walker y col., 1992
Perros	5 mg/kg P.O.	1.16	0.9	3.90	2.4	-	-	Kung y col., 1993
Perros	5 mg/kg P.O.	1.41	1.83	8.74	4.07	6.6		Heinen y col., 2002
Gatos	5 mg/kg I.V.	-	-	10.34	6.7	8.6	9.5	Richez y col., 1997b
Gatos	5 mg/kg PO	1.66	0.6	12.9	6.2	8.7	7.1	Richez y col., 1997b
Conejos	5 mg/kg I.V.	-	-	8.6	2.5	1.55	10.1	Broome y col., 1991
Conejos	5 mg/kg PO	0.45	2.3	5.43	2.41	8.46		Broome y col., 1991
Conejos	5 mg/kg I.M.	3.04	-		1.82			Cabanes, 1992
Pollos	10 mg/kg I.V.	-	-		10.29	9.65		Anadón y col., 1995
Pollos	5 mg/kg I.V.	-	-	29.6	7.52	9.96	2.98	García Ovando y col., 1997a
Pollos	5 mg/kg I.V.	-	-	26.76	6.99	10.24	3.30	García Ovando y col., 1999
Pollos	5 mg/kg I.V.	-	-	16.17	5.56	6.38	10.3	Knoll y col., 1999
Pollos	5 mg/kg P.O.	1.88	1.5	14.42	5.81	7.58	-	Knoll y col., 1999
Pollos	10 mg/kg PO	2.44	1.64		14.23	15.30		Anadón y col., 1995

Espece	Dosis y via	C <sub>max</sub> (µg/ml)	T <sub>max</sub> (horas)	ABC µg-h/ml	t <sub>1/2</sub> β (h)	TMR (h)	Clearance ml/min/kg	Referencias
<b>NO RUMIANTES</b>								
Patos	10 mg.kg I.M.	1.67	0.94	10.11	4.33	8.35	17.16	Intorre y col., 1997
Patos	10 mg/kg PO	0.99	1.38	6.65	3.85	6.01	26	Intorre y col., 1997
Truchas	10 mg/kg PO	1.28	8	154.77	56.3	68.6	-	Bowser y col., 1992
Corvinas	5 mg/kg P.O.	1.39	8	65.93	25.02	43.48	-	Intorre y col., 2000
Delfines	5 mg/kg P.O.	1.4	4	15.4	6.4	11.8	-	Linnehan y col., 1999

C<sub>max</sub> : máxima concentración plasmática; T<sub>max</sub> : tiempo en que se alcanza la máxima concentración ; t<sub>1/2</sub> β : semivida de eliminación; TMR : tiempo medio de residencia; ABC: área bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo.



### **III.8. Toxicidad e interacciones medicamentosas de las quinolonas**

#### **III.8.1. Toxicidad**

Se han reportado efectos tóxicos de quinolonas en el hombre y en los animales, que afectan a los sistemas nervioso, cardiovascular y gastrointestinal. Se ha informado además sobre la posibilidad de condrotoxicidad, toxicidad sobre la reproducción y el desarrollo, genotoxicidad, carcinogénesis, y fototoxicidad (Vancutsem y col., 1990; Sumano López, 1993; Takayama y col., 1995; Brown, 1996; McKellar, 1996; Stahlmann y Lode, 1999). Los efectos más comunes incluyen:

##### Sistema osteoarticular

El efecto adverso más reportado en animales es el daño articular. Han sido informadas lesiones articulares inducidas por quinolonas en ratas, conejos, conejillos de la India, monos (Takayama y col., 1995), perros inmaduros (Burkhardt y col., 1992; Spavone y col., 1997; Yoshida y col., 1998) y potrillos (Vancutsem, 1990; Langston y col., 1996). La dosis necesaria para inducir daño al cartílago en perros inmaduros está en el rango terapéutico (Stahlmann y Lode, 1999), y no se han hallado diferencia de comportamiento farmacocinético, al menos para la ofloxacina, entre perros inmaduros y maduros (Yoshida y col., 1998).

La lesión del cartílago joven es indiferenciable de la producida por deficiencia de magnesio a esa edad, la cual se puede deberse a formación de compuestos quelatos quinolona-magnesio (Stahlmann y col., 1995), o a alteraciones en la incorporación del magnesio (Davenport y col., 2001). Se ha sugerido también que una alteración del metabolismo del ADN puede estar involucrada en la necrosis de condrocitos (Takada y col., 1994). Muchos otros mecanismos han sido propuestos como responsables de las lesiones de cartílago inducidas por quinolonas, incluyendo inhibición de la síntesis de proteoglicanos, inhibición de la dehidrogenasa mitocondrial, acumulación tisular de flúor, y tal vez inducción de apoptosis (Menschik y col., 1997).

Sin embargo, estas artropatías y alteraciones en la morfología del cartílago articular se relacionan generalmente con dosificaciones elevadas y crónicas, y no han adquirido relevancia en animales productivos, como los cerdos, las aves y los terneros (Sumano López, 1993). En equinos adultos la enrofloxacin no produjo cambios significativos en las articulaciones luego de tratamientos prolongados (Giguère y col., 1999; Bertone y col., 2000).

En humanos se han reportado tendinitis y rotura de tendones asociadas a fluoroquinolonas (Stahlmann y Lode, 1999).

### Sistema digestivo

Las reacciones gastrointestinales adversas han sido reportadas en humanos: náusea, vómitos, dolor abdominal y diarrea (Takayama, 1995; Stahlmann y Lode, 1999). Las quinolonas exhiben un efecto de supresión selectiva sobre la microflora intestinal humana. La administración de quinolonas causa una marcada supresión de Enterobacteriaceae, mientras que las bacterias aeróbicas grampositivas son menos afectadas. La microflora anaeróbica es levemente suprimida sólo por algunas quinolonas (Korten y col., 1993; Nord, 1995). Algunas de las nuevas quinolonas usadas en humanos, como la gatifloxacina, trovafloxacina y moxifloxacina, son muy activas contra bacterias anaeróbicas *in vitro*, pero tiene un efecto menor sobre la microflora anaeróbica intestinal. La sitafloxacina y moxifloxacina afectan intensamente a los cocos aerobios grampositivos (Edlund y Nord, 1999).

### Sistema nervioso

En humanos se ha reportado reacciones del sistema nervioso tales como vértigo, inquietud, confusión, depresión, insomnio, somnolencia, ansiedad, temblores, jaquecas y convulsiones (Takayama y col., 1995). Casos severos de alucinación, delirio y psicosis han sido reportados, aunque rara vez, en pacientes humanos que estaban recibiendo tratamiento con ofloxacina y pefloxacina (Dellamonica y Dunais, 1996).

### Otros

Las reacciones alérgicas no son comunes en pacientes humanos que reciben fluorquinolonas (Dellamonica y Dunais, 1996). La incidencia de reacciones de hipersensibilidad cutánea (incluyendo eritema, prurito, urticaria y erupción) ha sido menor del 1 % (Stahlmann y Lode, 1999). Está bien documentada la fototoxicidad en pacientes tratados con fluorquinolonas, aunque es infrecuente también (Dellamonica y Dunais, 1996). La inflamación de la piel inducida por fotosensibilidad ha sido observada tanto en humanos como en animales de experimentación

(Takayama, 1995). Las manifestaciones clínicas varían desde eritema suave hasta severa erupción en la piel expuesta al sol (Stahlmann y Lode, 1999).

Se ha asociado el uso de enrofloxacin en gatos con la aparición de degeneración de la retina (Gelatt y col., 2001; Abrams-Ogg y col., 2002; Wiebe y Hamilton, 2002), aunque los representantes de la empresa productora de la droga lo atribuyen a una sobredosificación, y sostienen que en la dosis indicada no existe este tipo de toxicidad (Wilson, 2002).

Se ha asociado el uso de enrofloxacin en perros con la presentación del Síndrome del Shock Tóxico por *Streptococcus canis* en esta especie (Ingrey y col., 2003).

Se han reportado un posible efecto genotóxico de la enrofloxacin (Shimada y Itoh, 1996; Gorla y col., 1999).

La enrofloxacin es muy irritante cuando se administra por la vía intramuscular a los equinos, ocasionando un marcado aumento de la creatinquinasa en suero, e inflamación y dolor en algunos casos (Pyörälä y col., 1994b; Kaartinen y col., 1997b).

### III.8.2. Interacciones medicamentosas

En general, las fluorquinolonas rara vez muestran sinergismo o antagonismo cuando son usados con otros agentes antimicrobianos contra la mayoría de las bacterias (Neu, 1993; Brown, 1996). La combinación con penicilinas anti *Pseudomonas*, ceftazidime o imipenem es sinérgica, y puede ser útil en el tratamiento de infecciones en pacientes neutropénicos (Neu, 1993). Sin embargo, ocurre antagonismo de fluorquinolonas con macrólidos y tetraciclinas frente a estreptococos y enterococos, y en general las fluorquinolonas son antagonistas con el cloramfenicol (Brown, 1996)

La interacción entre las fluorquinolonas y la teofilina es por lejos la más estudiada (Janknegt, 1990). Algunas fluorquinolonas, incluida la enrofloxacin, disminuyen el clearance hepático y aumentan la vida media de eliminación de la teofilina y cafeína (Janknegt, 1990; Stahlmann y col., 1990; Brown, 1996). La administración de enrofloxacin causa un significativo incremento en las concentraciones plasmáticas de teofilina en perros (Intorre y col., 1995).

Pueden inducirse ataques convulsivos en ratones mediante la administración conjunta de fluoroquinolonas y antiinflamatorios no esteroides, particularmente fenbufen (Stahlmann y Lode, 1999).

Vancutsem y Babish, (1996) demostraron que la enrofloxacin a niveles terapéuticos causa una inhibición de las enzimas hepáticas P450IA1 y IA2. Por ello deben tomarse precauciones cuando se administra en forma conjunta con drogas que utilizan este sistema enzimático, tales como fenacetina, fenotiazinas y warfarina. Por otra parte, la enrofloxacin incrementa el contenido y estimula la actividad de la P450IIB, pero en forma leve a niveles terapéuticos, de modo que no debería afectar el metabolismo de otros compuestos metabolizados por la P450IIB, tales como el fenobarbital. Se ha encontrado que la enrofloxacin en dosis terapéuticas inhibe las monooxygenasas microsomas (citocromo P-450) en el hígado de pollos (Shlosberg y col., 1997).

## IV. Materiales y Métodos

## **IV. Materiales y métodos**

### **IV.1. Materiales**

#### **IV.1.1. Animales**

Se utilizaron catorce hembras adultas y sanas de la especie ovina, de 2 a 4 años de edad y pesos comprendidos entre 40 y 60 kilos. Ocho animales fueron asignados al experimento de cinética plasmática. Para la determinación de los niveles residuales en tejidos se utilizaron seis animales más, de condiciones similares a los usados para cinética plasmática, completando los catorce animales.

#### **IV.1.2. Producto**

El producto utilizado fue enrofloxacin (Orofarma, Bs.As. Argentina), con una pureza de 98 %.

#### **IV.1.3. Reactivos**

- Enrofloxacin (Orofarma, Bs.As. Argentina)
- Ciprofloxacina (Orofarma, Bs.As. Argentina)
- Acetonitrilo calidad HPLC. (J. T. Baker, USA)
- Metanol calidad HPLC. (J. T. Baker, USA)
- Ácido fosfórico 85 %. (J. T. Baker, USA)
- Ácido tricloroacético. (J. T. Baker, USA)
- Heparina sódica (Abbot, Argentina)
- Agua tridestilada
- Nitrógeno gas (Gasol Platense).

#### **IV.1.4. Material fungible**

- Gradillas para tubos de ensayo (Deltalab, Barcelona, España)
- Gradillas para microtubos (Deltalab, Barcelona, España)
- Frascos Erlenmeyer graduados, de 100, 250, 500 y 1000 ml de capacidad (IVA<sup>®</sup>, Bs. As., Argentina)
- Probetas de vidrio base plástica x 50, 100, 500 y 1000 ml de capacidad (IVA<sup>®</sup>, Bs. As., Argentina)
- Matraces aforados de vidrio de 10, 100 y 250 ml (IVA<sup>®</sup>, Bs. As., Argentina)
- Matraces aforados de vidrio (certificados) de 10 ml (Blaubrand<sup>®</sup>, Germany)
- jeringas descartables de 5 y 10 ml (Darling, Korea)
- agujas descartables de 0.8 x 38 mm (Nissho corp., Osaka, Japan).
- Filtros de membrana de 0.22 µm de diámetro de poro (Millipore, USA)

- Puntas de 100-1000µl de capacidad para micropipetas (Deltalab, Barcelona, España)
- Puntas de 5-200 µl de volumen para micropipetas (Deltalab, Barcelona, España)
- Tubos cónicos de polipropileno de 16 x 100 mm (Deltalab, Barcelona, España)
- Tubos fondo redondo de polipropileno 13 x 100 mm (Deltalab, Barcelona, España)
- Tapones de polietileno (Deltalab, Barcelona, España)
- Microtubos de polipropileno 11 x 39 mm (Deltalab, Barcelona, España)
- Tubos de vidrio borosilicato de 16 x 100 x 1 mm (IVA<sup>®</sup>, Bs. As., Argentina)
- Cartuchos de separación en fase sólida 200 mg / 3 ml (Bakerbond<sup>®</sup> SPE 7020-02, J.T. Baker, USA)
- Algodón hidrófilo.
- Cinta de enmascarar.
- Varillas de plástico descartables (utensilio de cotillón).

#### IV.1.5. Instrumental

- Micropipetas automáticas de volumen variable 20-100 µl, 0.2 -1 ml, 1 - 5 mL (Pipetman<sup>®</sup> (Gilson inc., France))
- Centrífuga (Presvac, Argentina).
- Agitador multitubos (Genie2, Scientific Industries Inc, New York, USA )
- Baño termostatzado (DALVO, Santa Fe, Argentina)
- Bomba de vacío
- Equipo de filtración (Millipore, USA)
- Múltiple de vacío para cartuchos SPE (Bakerbond<sup>®</sup> SPE, J.T. Baker, USA)
- Balanza de precisión (Boeco, Hamburg, Germany)
- Peachímetro digital Cole Palmer modelo 5996-60 (Cole Palmer Corp., illinois, USA)
- Aparato de dispersión Ultra-Turrax<sup>®</sup> T 25 basic (IKA<sup>®</sup> WORKS, INC. Wilmington, USA)
- Util de dispersión Ultra-Turrax<sup>®</sup> S25N 10G (IKA<sup>®</sup> WORKS, INC. Wilmington, USA)
- Jeringa de 100 µl para inyección en cromatógrafo (Hamilton, USA)
- Equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) integrado por
  - Inyector manual Rheodyne 7725 (Cotati, Redwood, CA, USA)
  - Bomba isocrática modelo 307 (Gilson inc., France)
  - Detector ultravioleta modelo UV/VIS-155 (Gilson inc.,France)
  - Detector fluorescente (Thermo Separation Product Fluoromonitor ImIII)
  - Programa de integración Uni Point System (Gilson inc., France).
  - Columna cromatográfica 5 µm, 125 mm x 4 mm LiChrospher 100 RP-18 (Merck, Darmstadt, Germany)
  - Precolumna 4 x 4 mm LiChrospher 100 RP C<sub>18</sub> (Merck, Darmstadt, Germany)
- Freezer (Gafa).

**IV.1.6. Equipamiento informático**

- Computadora personal Intel Pentium 166
- Computadora personal Intel Celeron 700
- Computadora personal AMD Athlon 2.0
- Impresora Hewlett-Packard 670 C
- Impresora Hewlett-Packard 3535
- Programa de análisis cinético PKCALC
- Programa de análisis cinético CSTRIP
- Programa de análisis cinético ADAPT II
- Programa de análisis estadístico SPSS versión shareware



## **IV.2. Métodos**

### **IV.2.1. Cinética plasmática**

#### **IV.2.1.1. Recepción y acondicionamiento de los animales**

Los 8 ovinos fueron adquiridos a un productor de la zona 4 semanas antes del inicio de los experimentos. Los animales fueron considerados clínicamente sanos basados en su examen físico y sus parámetros bioquímicos. Dos semanas antes del inicio del experimento recibieron un tratamiento antiparasitario con 300 µg/kg de ivermectina (Bovifort, Biogénesis, Argentina).

Los animales estuvieron sujetos a idénticas condiciones de manejo y alimentación. Durante el día fueron alojados en corrales abiertos con acceso a un sector con sombra, y durante la noche fueron guarecidos en estancias individuales construidas de paredes y techo de mampostería. Los animales recibieron una ración diaria de heno de alfalfa y moha, y disponían de libre acceso al agua. Periódicamente recibían un suplemento dietario de alimento balanceado en forma de pellets.

Los experimentos fueron conducidos entre los meses de septiembre y diciembre, cuando el rango de temperatura a la sombra fue de 15 a 30 ° C.

#### **IV.2.1.2. Diseño experimental**

Se utilizó un diseño “crossing-over” con 4 grupos de 2 animales cada uno, en 4 etapas, con un intervalo de 3 semanas entre cada una de ellas. Tanto la conformación de los grupos como la asignación de los tratamientos (vías de administración) se realizó al azar. Las vías de administración empleadas fueron: **intravenosa, intramuscular, subcutánea y oral**. Luego de 3 semanas se intercambiaron las vías de administración hasta completar las 4 etapas. Así, a la finalización del experimento cada animal fue dosificado por las 4 vías de administración, y cada una de las vías de administración fue empleada en los 8 animales

Tabla 14. Diseño experimental: 8 animales (números 1 al 8), 4 tratamientos (administraciones intravenosa, intramuscular, subcutánea y oral), y 4 fases experimentales (A, B, C y D).

		Tratamientos							
		INTRAVENOSA		INTRAMUSCULAR		SUBCUTÁNEA		ORAL	
Fases experimentales	A	1	2	3	4	5	6	7	8
	B	7	8	1	2	3	4	5	6
	C	5	6	7	8	1	2	3	4
	D	3	4	5	6	7	8	1	2

#### IV.2.1.2.1. Administración de la droga y procedimiento de muestreo

Los animales fueron pesados la tarde anterior al día de la administración de la droga y del muestreo. La piel fue rasurada en los sitios de administración de la droga y de extracción de sangre. Todos los ensayos se iniciaron entre las 8 y las 10 hs en la mañana. Los animales fueron sujetos sin necesidad de sedación farmacológica, y tanto la zona de administración de la droga como la de extracción de sangre fueron convenientemente desinfectadas con una solución de yodo povidona.

La dosis de enrofloxacin para todos los animales y para todas las vías de administración fue de 2.5 mg/kg. Para la administración se preparó una solución de enrofloxacin a una concentración de 2.5 mg/ml en agua des-ionizada, estéril, apirógena, acidificada con ácido fosfórico (85 %) a un pH final de 3.0. Esta solución fue preparada una hora antes, y para la medición de los volúmenes correspondientes a cada dosificación se utilizó una micropipeta de volumen variable.

La administración intravenosa de la droga se realizó en bolo (< 1 min) en una de las venas yugulares, y las muestras fueron tomadas de la vena opuesta correspondiente. La administración intramuscular se efectuó en la zona de los músculos semimembranoso y semitendinoso, y la administración subcutánea en zona de la parrilla costal, 15 cm por detrás de la articulación del hombro. Para la vía oral se utilizó una sonda de polietileno mediante la cual se administró la dosis por detrás de la base de la lengua.

La toma de las muestras de sangre (8 ml) se realizó a los tiempos estipulados, mediante jeringas estériles descartables de 10 mL y agujas descartables estériles de 38 x 0.8 mm. Las jeringas fueron heparinizadas por enjuague con una solución de heparina sódica con una concentración de 1000 UI por mililitro. Antes de la administración de la droga se tomaron muestras de sangre a cada uno de los animales, denominadas "muestras a tiempo cero" Los tiempos de extracción luego de la administración intravenosa fueron 2.5, 5, 10, 15, 20, 30 y 40 minutos, y 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 96 horas. Luego de las administraciones extravasculares se extrajeron muestras a los 7.5, 15, y 30 minutos, y a las 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 96 horas. Para la medición del tiempo se utilizó un cronómetro digital, y la tolerancia fue de  $\pm 10$  segundos para las primeras 2 horas,  $\pm 1$  minuto para el resto del primer día, y  $\pm 10$  minutos para el resto de los días de ensayo.

La sangre fue transferida a tubos de vidrio, y centrifugada durante 10 minutos a 3000 rpm dentro de la hora inmediata posterior a su la recolección. El plasma obtenido fue separado, colocado en tubo de polipropileno con tapa a presión, y congelado a  $-20$  °C hasta su análisis.

#### **IV.2.1.3. Metodología analítica**

Para la determinación cuantitativa de enrofloxacin y ciprofloxacina en plasma se utilizó Cromatografía Líquida de Alta Resolución en Fase Reversa (HPLC-RP) con detección ultravioleta.

##### **IV.2.1.3.1. Extracción de las drogas a partir del plasma**

Se ensayaron varias metodologías de extracción, tanto en fase líquida como en fase sólida, a partir de los trabajos publicados por Tyczkowska y col., (1989), Rogstad y col. (1991), Cabanes y col. (1992), Horie et al. (1994), Tyczkowska y col. (1994), Anadón et al. (1995<sup>a</sup>), Stegeman (1996), Rose et al. (1998) y Manceau et al. (1999). Finalmente, el método fue desarrollado a partir de modificaciones de los métodos publicados por Horie y col. (1994), Stegeman (1996), Rose et al.

(1998) y Manceau y col. (1999), considerando las propiedades físico-químicas de la enrofloxacin (Lizondo y col., 1997).

Para la extracción de enrofloxacin y ciprofloxacina, tanto desde el plasma como de tejidos, se utilizó un método de Extracción en Fase Solida (EFS).

Las muestras de plasma fueron descongeladas y homogeneizadas inmediatamente antes de su análisis. Para desproteinizar el plasma y extraer la droga se utilizó una mezcla de acetonitrilo puro y ácido tricloroacético al 5% en relación 70:30 vol/vol. A cada tubo con 1 ml de plasma se le añadió 1 ml de solución de extracción. La mezcla fue agitada vigorosamente con mezclador vortex durante 10 minutos, y luego centrifugada a 3.500 rpm durante 30 minutos. El sobrenadante fue transferido a un segundo tubo de recolección. Al residuo en el primer tubo se le adicionó 1 ml de solución de extracción, y fue resuspendido y homogeneizado con una varilla de plástico descartable. Se repitieron las etapas de mezcla y centrifugación, quedando finalmente en cada tubo de recolección aproximadamente 2,5 ml de sobrenadante transferido desde el primer tubo. Ese volumen se diluyó con 3 ml de una solución tampón fosfato (fosfato dihidrógeno de potasio 8.75 mg/L), ajustada a pH 2.1 con ácido ortofosfórico (Fig. 11).

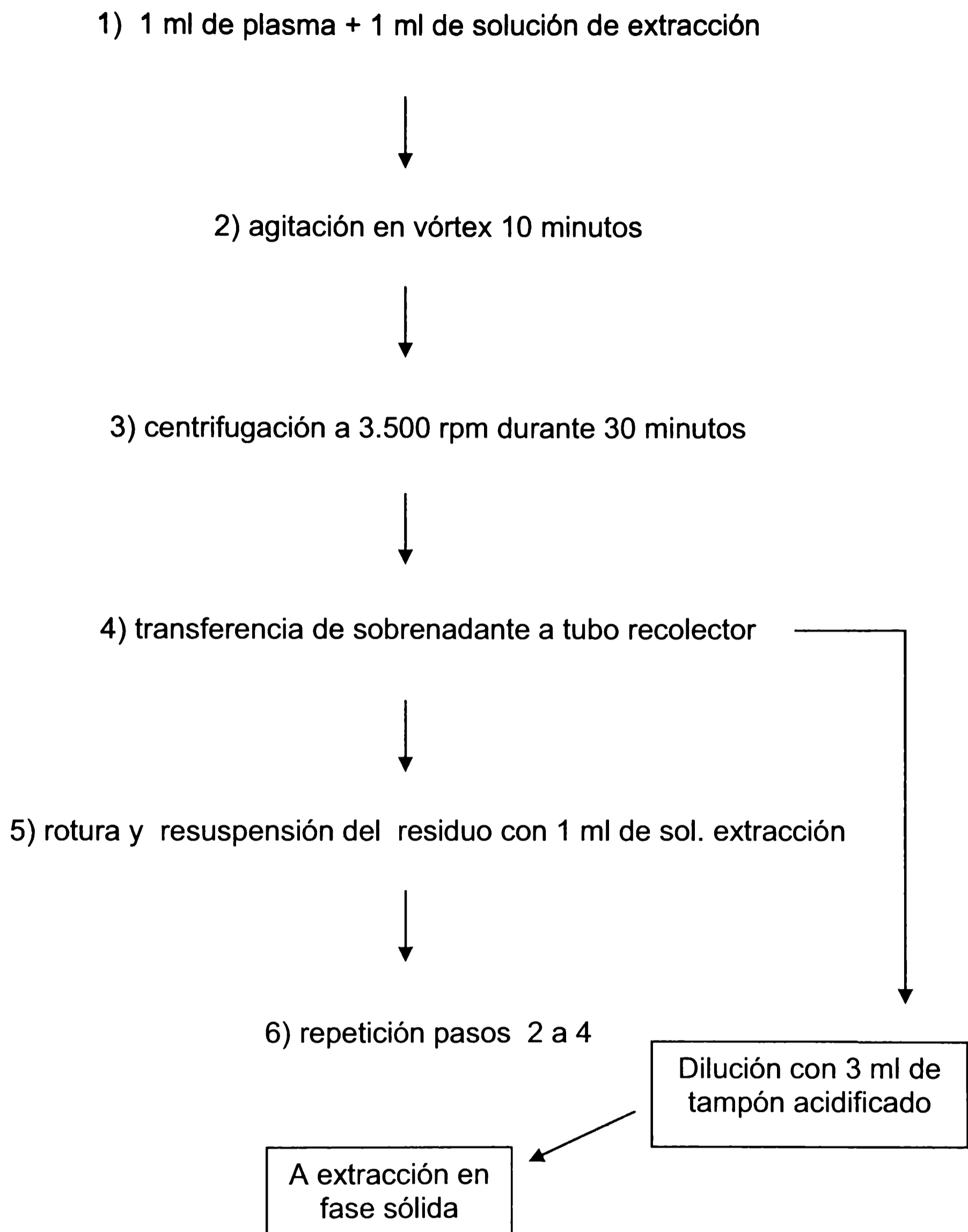


Figura 11: esquema del método de extracción de enrofloxacin y ciprofloxacin a partir de plasma

La siguiente etapa de extracción se llevó a cabo con cartuchos de extracción en fase sólida (Fig. 12). Antes de la siembra de las muestras en los cartuchos, cada uno de ellos fue acondicionado con 3 ml de acetonitrilo y 9 ml de la solución tampón fosfato citada previamente. La siembra de cada muestra se hizo con la ayuda de vacío, utilizando para tal fin un dispositivo diseñado especialmente y comercializado por la empresa proveedora de los cartuchos. La siembra se realizó en forma lenta, a un flujo no mayor a 0.5 ml/min. El lavado posterior se efectuó con 3 ml de la solución tampón fosfato, y luego se secaron los cartuchos utilizando vacío por 3 min. Para la elución se utilizaron 3 ml de una solución de metanol y ácido ortofosfórico 0.5 M en relación 70:30 vol/vol. El producto eluido fue evaporado hasta desecación en baño termostático a 50°C y bajo un flujo suave de nitrógeno. El residuo fue reconstituído en 0.5 ml de fase móvil y agitado por 5 minutos. Previa homogeneización, 100 µl del extracto disuelto fueron inyectados al cromatógrafo.

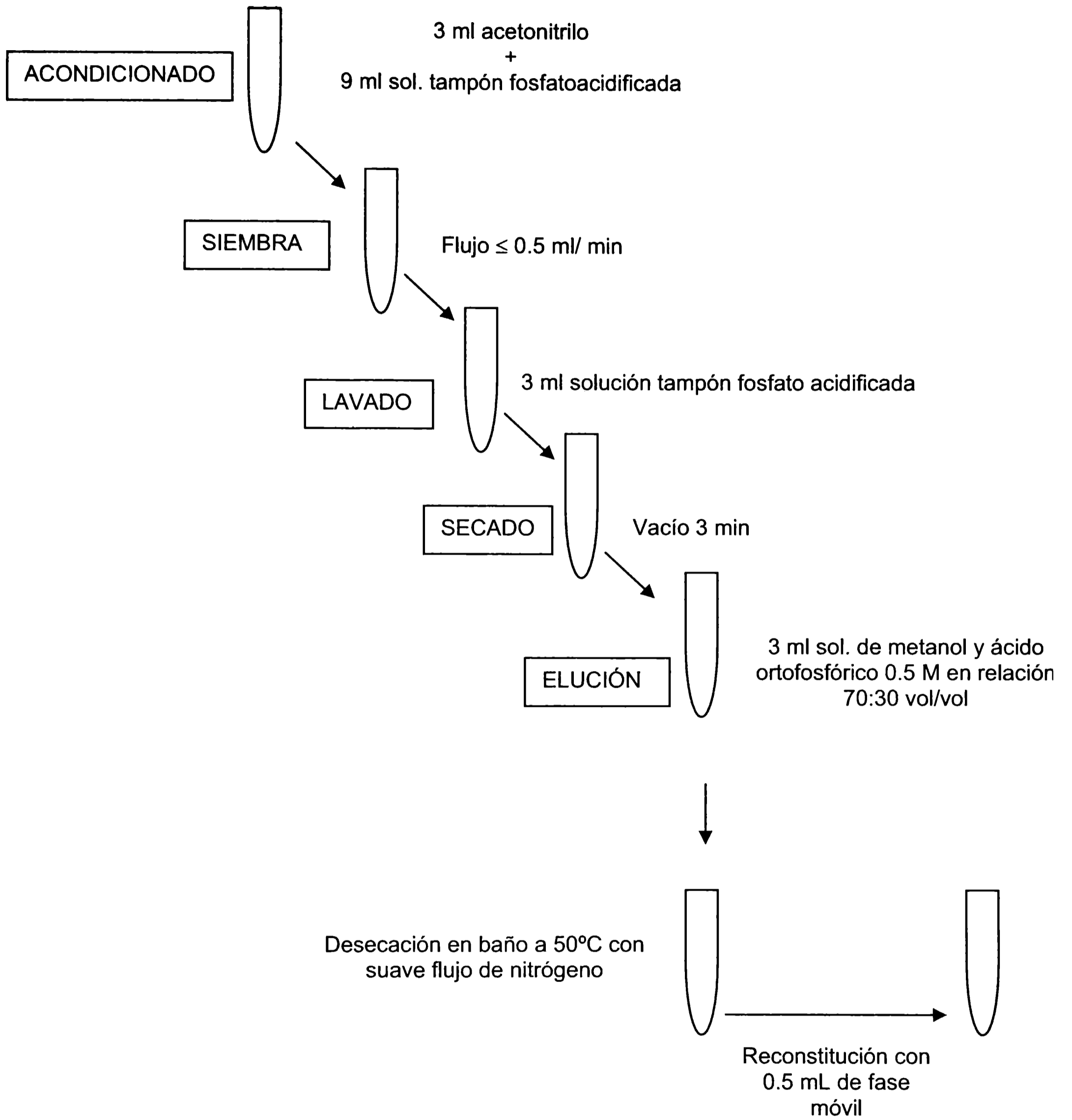


Figura 12: esquema de la extracción en fase sólida

### **2.1.3.2. Análisis cromatográfico**

Se realizaron pruebas con distintas fases móviles, con combinaciones metanol:agua y acetonitrilo:agua en distintas proporciones, y con distintos pH y velocidades de flujo. De todas las variaciones probadas, la fase móvil con la cual se logró el mejor resultado fue:

- acetonitrilo y agua (14:86), con 0.4% de trietilamina y 0.4% de ácido ortofosfórico (pH= 2.2)
- Elución isocrática
- Flujo: 1.5 ml/min.

Las otras condiciones cromatográficas fueron

- Columna LiChrospher 100 RP-18 5 µm, 125 mm x 4 mm
- Precolumna LiChrospher 100 RP C<sub>18</sub> 4 x 4 mm
- Detección: ultravioleta
- Longitud de onda: 278 nm
- Sensibilidad: 0.001.
- Volumen inyectado; 100 µl
- Temperatura: ambiente

La cuantificación de los resultados se realizó en función de las áreas bajo los picos cromatográficos mediante interpolación con los valores obtenidos en la recta de calibrado. Se utilizaron ciprofloxacina y enrofloxacin como patrón externo. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado y el valor final utilizado fue la media de las dos concentraciones obtenidas.



#### **IV.2.1.3.3. Validación del método**

Para validar el método analítico utilizado se calculó el límite de detección y se realizaron pruebas de linealidad, reproducibilidad y recuperabilidad en plasma, según FDA-Center for Drug Evaluation and Research (1994) y FDA-Center for Veterinary Medicine (1999).

Las soluciones stock de 1 mg/ml de enrofloxacin y ciprofloxacina respectivamente fueron preparadas en una mezcla de partes iguales de acetonitrilo e hidróxido de sodio 0.1 M.

Las soluciones de trabajo de enrofloxacin y ciprofloxacina de 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5 y 10 µg/ml respectivamente, fueron preparadas diariamente a partir de las soluciones stock. Las soluciones para enriquecimiento de muestras (0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20, 30, 50 y 100 µg/ml) fueron preparadas del mismo modo.

El límite de detección para enrofloxacin y ciprofloxacina respectivamente se calculó en base a 3.3 veces el desvío estándar de soluciones patrones blanco. El límite de cuantificación para enrofloxacin y ciprofloxacina respectivamente se calculó en base a diez veces el desvío estándar de soluciones patrones blanco.

Para los estudios de linealidad se prepararon por duplicado muestras de plasma blanco enriquecidas con enrofloxacin y ciprofloxacina a concentraciones de 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5 y 10 µg/ml respectivamente. La recta de calibrado fue caracterizada por su coeficiente de regresión, pendiente e intercepción y los datos de concentraciones y áreas bajo la curva se ajustaron a una recta por regresión lineal.

La reproducibilidad del método se obtuvo analizando por duplicado las 8 muestras durante 6 días consecutivos, y calculando los coeficientes de variación interdía e intradía.

La recuperabilidad se calculó a partir de muestras de plasma ovino enriquecidas con enrofloxacin y ciprofloxacina a concentraciones finales de 0.1, 0.5 y 1 µg/ml para cada droga, y procesadas por el método cromatográfico utilizado para las muestras problema. Los valores de ABC obtenidos se compararon con los obtenidos con las mismas concentraciones de las drogas en soluciones preparadas en acetonitrilo e hidróxido de sodio 0.1 M, y se calcularon los porcentajes de recuperación.

La cuantificación de los resultados del análisis cromatográfico de las muestras se realizó por interpolación de la recta de calibrado.

#### **IV.2.1.4. Análisis farmacocinético**

Para el análisis de los datos de concentración plasmática en el tiempo se utilizaron tres enfoques (Grabrielsson & Weiner, 1999).

- análisis no compartimental (teoría de los momentos estadísticos, Yamaoka et al., 1978b)
- la teoría compartimental
  - regresión lineal
  - regresión no lineal

Una vez obtenidas las concentraciones de enrofloxacin y ciprofloxacina en plasma, se construyeron las correspondientes curvas de nivel plasmático (CNP) que fueron ajustadas matemáticamente mediante la utilización de distintos programas informáticos.

Las características de las curvas concentración plasmática-tiempo y el cálculo de los parámetros cinéticos fueron realizados en primer lugar para cada animal en forma individual. Luego se obtuvieron las medias de los 8 animales para cada tiempo de las curvas concentración plasmática-tiempo y para cada parámetro.

##### **IV.2.1.4.1. Análisis no compartimental**

El análisis de los datos por la teoría de momentos estadísticos se realizó utilizando el programa PKCALC, calculando los parámetros farmacocinéticos en base a los datos de concentración plasmática-tiempo obtenidos del análisis de las muestras. Los parámetros calculados fueron: concentración máxima ( $C_{max}$ ); tiempo a la concentración máxima ( $T_{max}$ ); área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo a tiempo  $t$  ( $ABC_{0-t}$ ) y extrapolada a infinito ( $ABC_{0-\infty}$ ); área bajo la curva en el primer momento a tiempo  $t$  ( $ABCM_{0-t}$ ) y extrapolada a infinito ( $ABCM_{0-\infty}$ ); tiempo medio de

absorción (TMA) y tiempo medio de residencia plasmática (TMR); volumen aparente del compartimiento central ( $V_c$ ); volumen aparente de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ); tasa constante de eliminación, vida media de eliminación y aclaramiento corporal (Cl). El área bajo la curva concentración versus tiempo, y el área bajo la curva en el primer momento fueron calculadas por el método de los trapezoides. La extrapolación a infinito se hizo dividiendo la última concentración medida por la constante de la tasa de eliminación. Además se utilizaron las funciones PK para Microsoft Excel de Usansky y colaboradores (Tabla I del anexo).

#### IV.2.1.4.2. Análisis compartimental

La función exponencial aplicada, para 1, 2 o 3 exponentes según corresponda, se tomó de la ecuaciones:

$$C_p = B e^{-\beta t}$$

$$C_p = A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t}$$

$$C_p = P e^{-\pi t} + A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t}$$

Donde:

$C_p$  es la concentración de la droga a cualquier tiempo;

$P$  y  $A$  son las intercepciones al origen (eje Y) de las fases de la curva correspondientes a la distribución, con dimensiones expresadas en  $\mu\text{g/ml}$ ;

$B$  es la intercepción al origen (eje Y) de la fase de la curva correspondientes a la eliminación, con dimensiones expresadas en  $\mu\text{g/ml}$ ;

$\pi$  y  $\alpha$  son las constantes de las distribución, con dimensiones expresadas en  $\text{min}^{-1}$ ;

$\beta$  es la constante de eliminación, con dimensiones expresadas en  $\text{min}^{-1}$ ;

$e$  es la base del logaritmo natural; y

$t$  es el tiempo

#### IV.2.1.4.2.1. Discriminación de modelos

Para la discriminación de modelos farmacocinéticos se siguieron los siguientes criterios:

- coeficiente de correlación de Pearson
- distribución F para modelos de j o k parámetros
- criterio de Akaike (1976)

Se graficaron las curvas correspondientes a los datos observados y a los datos que predijo cada modelo. Según el coeficiente de correlación de Pearson, el modelo que mejor ajusta los datos experimentales es aquel que presenta un valor de este coeficiente más próximo a la unidad.

Si las diferencias observadas entre los valores coeficiente de correlación de Pearson no eran muy grandes, se aplicó el test de la razón de F, que sirve para saber si las sumas de las desviaciones al cuadrado ponderadas han sido suficientemente reducidas para justificar un ajuste con parámetros adicionales. Para ello se calcula el valor F aplicando la siguiente ecuación:

$$F = \frac{(SC1-SC2) / (GL1 / GL2)}{SC2 / GL2}$$

donde:

SC: sumas las desviaciones al cuadrado ponderadas para cada uno de los modelos

SC1: modelo más simple

SC2: modelo más complejo

GL: grados de libertad (nº de datos experimentales menos números de parámetros del modelo)

GL1: modelo más simple

GL2: modelo más complejo

La idea es ajustar los datos a dos modelos, uno más complejo que el otro, y cuantificar la bondad de ajuste como la suma de cuadrados de las desviaciones de los datos experimentales con respecto al modelo. La complejidad del modelo se cuantifica con los grados de libertad, los cuales son iguales al número de datos (concentraciones vs. tiempo) menos el número de parámetros del modelo, dos para un modelo bicompartimental y tres para uno tricompartmental. La idea es que si el modelo

más simple es el correcto, se espera que el incremento relativo de la suma de cuadrados sea aproximadamente igual al incremento relativo en los grados de libertad. Si por el contrario, el mejor ajuste corresponde al modelo más complejo, entonces el incremento en la suma de cuadrados (desde el modelo más complejo al más simple) es mayor que el incremento en los grados de libertad en el mismo sentido. La razón F iguala la diferencia relativa en la suma de cuadrados dividida por la diferencia relativa en los grados de libertad.

$$F = \frac{(SC1-SC2) / SC2}{(GL1/ GL2)/GL2}$$

Ecuación que puede transformarse en:

$$F = \frac{(SC1-SC2) / (GL1 / GL2)}{SC2 / GL2}$$

y finalmente en:

$$F = \frac{(SC1-SC2) / (GL1 / GL2)}{SC2 / GL2}$$

Si el modelo más simple es el correcto, el valor de F estará más cerca de 1. Si la razón F es mucho mayor que 1 el modelo más complejo es el que mejor ajusta a los datos. Como la distribución F es bien conocida, puede calcularse el valor P a partir de el valor F y ambos grados de libertad. Puede conocerse así conocer la probabilidad de que los datos ajusten mejor a un modelo más complejo, cuando el modelo más simple es la alternativa correcta.

Otra discriminación entre modelos fue realizada en base al criterio de información de Akaike (AIC) y su adaptación para discriminación de modelos hecha por Yamaoka y col. (1978a), conformando el test MAICE. El valor de AIC es uno de los criterios de elección de modelos más utilizados en estudios farmacocinéticos, dado que tiende a favorecer los modelos más sencillos.

Akaike definió su modelo a través de la siguiente ecuación:

$$AIC = N \cdot \ln \cdot Re + 2p$$

donde :

N = número de datos

p = número de parámetros

Re= suma de cuadrados de las residuales obtenidas entre las concentraciones experimentales y teóricas

$$Re: \sum_{i=1}^n W_i (C_t - C_e)^2$$

Donde:

Ct= concentración teórica

Ce= concentración estimada

Wi= factor de pesada para cada dato

Según este criterio, el modelo que tenga un menor valor AIC será el que mejor ajuste los datos.

#### IV.2.1.4.2.1.1. Análisis compartimental lineal

Para el análisis compartimental lineal los datos de concentración plasmática-tiempo se ajustaron matemáticamente a ecuaciones de 1, 2 y 3 exponentes mediante el programa CSTRIP (Sedman & Wagner, 1976).

El mejor ajuste se calculó por el método de los mínimos cuadrados. Otra discriminación fue realizada por análisis de regresión lineal (coeficiente de Pearson) entre las concentraciones experimentales y teóricas obtenidas usando los modelos monocompartimental, bicompartimental y tricompartmental (Fig. 13)

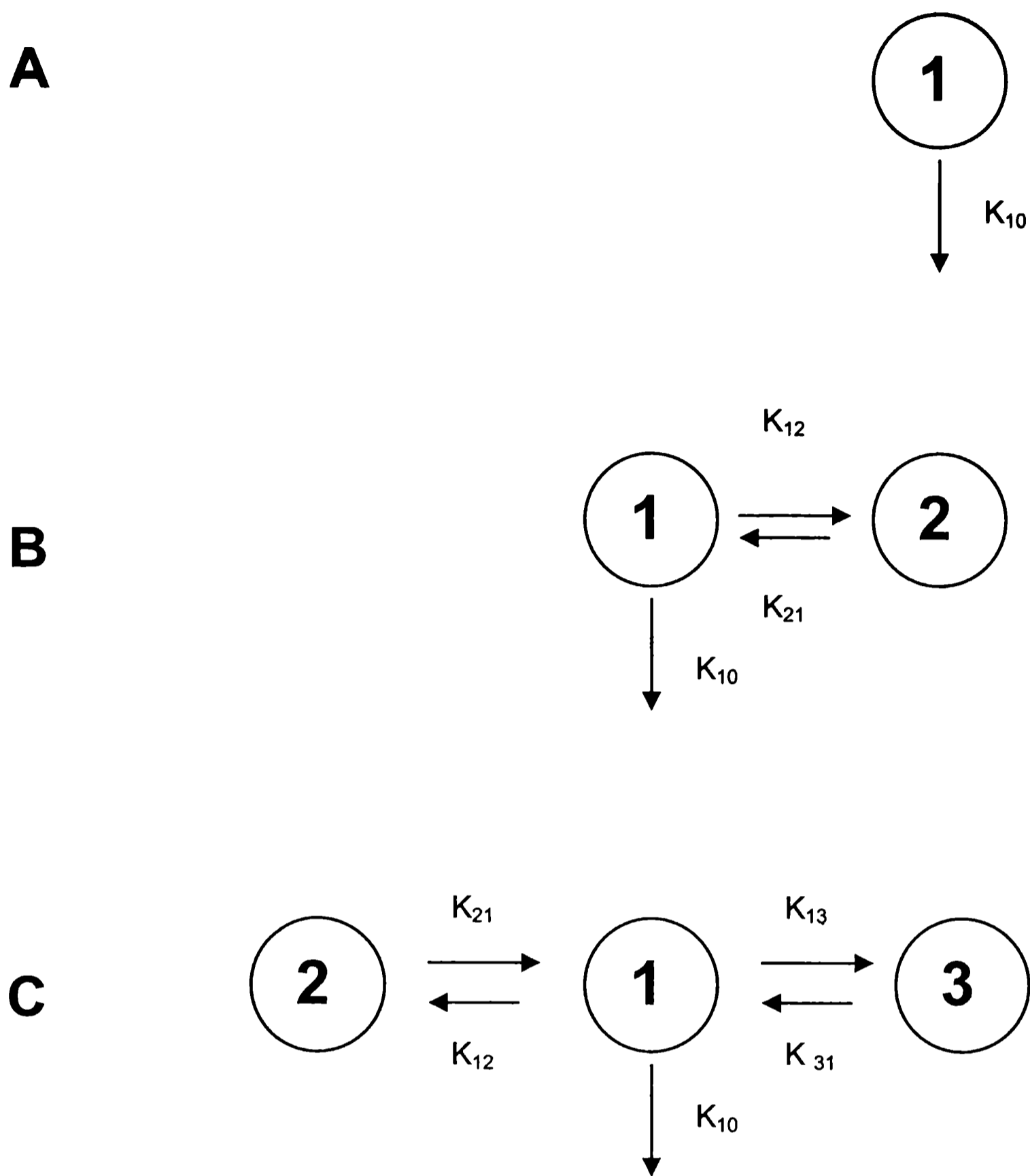


Figura 13. Representación de modelos farmacocinéticos monocompartimental (A), bicompartimental (B) y tricompartimental (C). En A, 1 es un compartimiento único en el cual la droga se distribuye homogéneamente. En B, 1 es el compartimiento central y 2 es el compartimiento periférico. En C, 1 es el compartimiento central, 2 es el compartimiento periférico superficial (con rápida tasa de intercambio con 1), y 3 es el compartimiento periférico profundo (con lenta tasa de intercambio con 1). Los flujos intercompartmentales y los flujos de eliminación están representados por sus microconstantes ( $K_{12}$ ,  $K_{21}$ ,  $K_{13}$ ,  $K_{31}$ , y  $K_{10}$ )

En base a los datos surgidos del programa CSTRIP (intercepciones, por extrapolación, de las regresiones de cada una de las fases de la curva concentración plasmática-tiempo al tiempo cero A, B y P y constantes híbridas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ) los parámetros farmacocinéticos se calcularon mediante las clásicas fórmulas de Gibaldi (1982), Baggot (1986) y Domenech-Berrozpe-Plá Delfina (1997) (tabla I del anexo).

Para la administración intravenosa fueron calculados los siguientes parámetros:

- intercepción de la curva trifásica concentración plasmática-tiempo al tiempo cero (A, B y P);
- constantes híbridas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ;
- vida media de distribución rápida ( $t_{1/2\alpha}$ );
- vida media de distribución lenta ( $t_{1/2\pi}$ );
- vida media de eliminación ( $t_{1/2\beta}$ );
- constantes de distribución desde el compartimiento central hacia los compartimientos periféricos y desde éstos al central ( $k_{12}$ ,  $k_{21}$ ,  $k_{13}$ ,  $k_{31}$ ), y constante de eliminación ( $k_{10}$ );
- volumen aparente del compartimiento central ( $v_c$ );
- volumen aparente de los compartimientos periféricos ( $v_{p2}$  y  $v_{p3}$ );
- volumen aparente de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ );
- aclaramiento total de la droga ( $Cl_t$ ).
- aclaramiento desde los compartimientos periféricos ( $Cl_2$  y  $Cl_3$ )

Los parámetros farmacocinéticos calculados para las vías intramuscular y subcutánea incluyeron:

- constante de absorción ( $K_a$ );
- microconstantes de transferencia entre compartimientos ( $k_{21}$ ,  $k_{12}$ );
- vida media de distribución ( $t_{1/2\alpha}$ );
- vida media de eliminación ( $t_{1/2\beta}$ );
- constante de desaparición de la droga desde el compartimiento central ( $K_{el}$ );
- volumen aparente del compartimiento central ( $v_c$ ),
- volumen aparente de distribución en estado estacionario ( $V_{ee}$ );
- aclaramiento total de la droga ( $Cl_t$ ).



#### IV.2.1.4.2.1.2. Análisis compartimental no lineal

El análisis compartimental se realizó con el programa de regresión no lineal ADAPT II, creado por David D'Argenio y Alan Schumitzky (1997) en la Universidad del Sur de California, el cual utiliza el algoritmo SIMPLEX (Nelder & Mead, 1965). Los datos ingresados al programa fueron los parámetros estimados con el programa de regresión lineal CSTRIP a partir de las concentraciones experimentales en plasma (Sedman & Wagner, 1976).

Se pesaron los datos a fin de un mejor balance. Las pesadas utilizadas para las concentraciones de las drogas fueron  $X$ ,  $1/\sqrt{X}$ ,  $1/X$  and  $1/X^2$ , donde  $X$  son las concentraciones plasmáticas a los distintos tiempos luego de la administración de la droga. La mejor pesada se estableció a partir a la suma de cuadrados de los residuales obtenidos entre las concentraciones experimentales y teóricas, y del análisis de la dispersión y de la distribución aleatoria de esos residuales alrededor de la abcisa.

El programa ADAPT II calculó los parámetros modelo-dependientes y las microconstantes que describen las tasas de transferencia entre los compartimientos. Para la administración intravenosa fueron calculados los siguientes parámetros:

- intercepción de la curva trifásica concentración plasmática-tiempo al tiempo cero (A, B y P);
- constantes híbridas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ;
- vida media de distribución rápida ( $t_{1/2\alpha}$ );
- vida media de distribución lenta ( $t_{1/2\pi}$ );
- vida media de eliminación ( $t_{1/2\beta}$ );
- constantes de distribución desde el compartimiento central hacia los compartimientos periféricos y desde éstos al central ( $k_{12}$ ,  $k_{21}$ ,  $k_{13}$ ,  $k_{31}$ ), y constante de eliminación ( $k_{10}$ );
- volumen aparente del compartimiento central ( $v_c$ );
- volumen aparente de los compartimientos periféricos ( $v_{p2}$  y  $v_{p3}$ );
- volumen aparente de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ );
- aclaramiento total de la droga ( $Cl_t$ ).
- aclaramiento desde los compartimientos periféricos ( $Cl_2$  y  $Cl_3$ )

Los parámetros farmacocinéticos calculados para las vías intramuscular y subcutánea incluyeron:

- constante de absorción ( $K_a$ );
- microconstantes de transferencia entre compartimientos ( $k_{21}$ ,  $k_{12}$ );
- vida media de distribución ( $t_{1/2\alpha}$ );
- vida media de eliminación ( $t_{1/2\beta}$ );
- constante de desaparición de la droga desde el compartimiento central ( $K_{el}$ );
- volumen aparente del compartimiento central ( $v_c$ ),
- volumen aparente de distribución en estado estacionario ( $V_{ee}$ );
- aclaramiento total de la droga ( $Cl_t$ ).

#### **IV.2.1.5. Análisis estadístico**

Las pruebas de linealidad y el calibrado de las rectas se realizaron por ajustes mediante regresión lineal de los datos por el método de los mínimos cuadrados.

Para la expresión de los resultados se utilizó la media aritmética  $\pm$  el desvío estándar de la media y el correspondiente coeficiente de variación. Cuando los datos no tuvieron una distribución normal se utilizó la media armónica

Las diferencias en los datos farmacocinéticos entre las distintas vías de administración de las drogas, y entre los distintos métodos de análisis cinético, fueron analizadas para la estimación de su significancia estadística por los tests de Mann-Whitney, de Kruskal-Wallis, y ANOVA de una vía. En todos los tests fue considerado como significativo el nivel de probabilidad del 0.05.

Los cálculos se realizaron con ayuda del programa informático SPSS (1996) en su versión shareware.

## **IV.2.2. Cinética en tejidos**

Los animales estuvieron sujetos a las mismas condiciones de manejo y alimentación descritas en el apartado 2.1.1.

### **IV.2.2.1. Administración de la droga y procedimiento de muestreo**

Los animales fueron pesados el día anterior a la administración de la droga y muestreo. La piel fue rasurada en los sitios de administración de la droga y de extracción de sangre. Los animales fueron sujetos sin necesidad de sedación farmacológica, y tanto la zona de administración de la droga como la de extracción de sangre fueron convenientemente desinfectadas con una solución de yodo povidona.

La enrofloxacin se administró en forma intramuscular, en bolo, a una dosis de 2,5 miligramos por kilo. Se establecieron como tiempos de sacrificio las horas 6, 12, 24, 48, 96 y 192. En cada tiempo se sacrificaron 2 animales. Dos animales más, a los cuales no se les administró la droga, se sacrificaron para ser utilizados como blancos. Se tomaron muestras de hígado, riñón, grasa, músculo y sitio de inyección. Las muestras fueron congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

### **IV.2.2.2. Metodología analítica**

Para la determinación cuantitativa de enrofloxacin y ciprofloxacina en tejidos se utilizó Cromatografía Líquida de Alta Resolución en Fase Reversa (HPLC-RP) con detección fluorescente. El método fue desarrollado a partir de modificaciones de los métodos publicados por Knoll y col. (1999) y Posyniak y col. (1999), considerando las propiedades físico-químicas de la enrofloxacin (Lizondo y col., 1997).

#### **IV.2.2.2.1. Extracción de las drogas a partir de los tejidos**

Las muestras de tejidos fueron descongeladas y homogeneizadas inmediatamente antes de su análisis. Para la extracción de la droga se utilizó una mezcla de acetonitrilo puro y ácido tricloroacético al 5% en relación 70:30 vol/vol. A cada tubo con 1 gramo de tejido se le añadió 5 ml de solución de extracción. La homogeneización del tejido se realizó con un parato de dispersión Ultra-Turrax®. El homogeneizado fue transferido a un segundo tubo de recolección. El vástago de dispersión y el primer tubo de extracción se enjuagaron con 2 ml de la misma solución de extracción, transfiriendo la suspensión resultante al segundo tubo. La mezcla fue agitada vigorosamente con mezclador vortex durante 10 minutos, y luego centrifugada a 3.500 rpm durante 30 minutos. El sobrenadante fue transferido a un tercer tubo de recolección, yal cual se le agregaron 4 ml de agua tridestilada (Fig. 14).

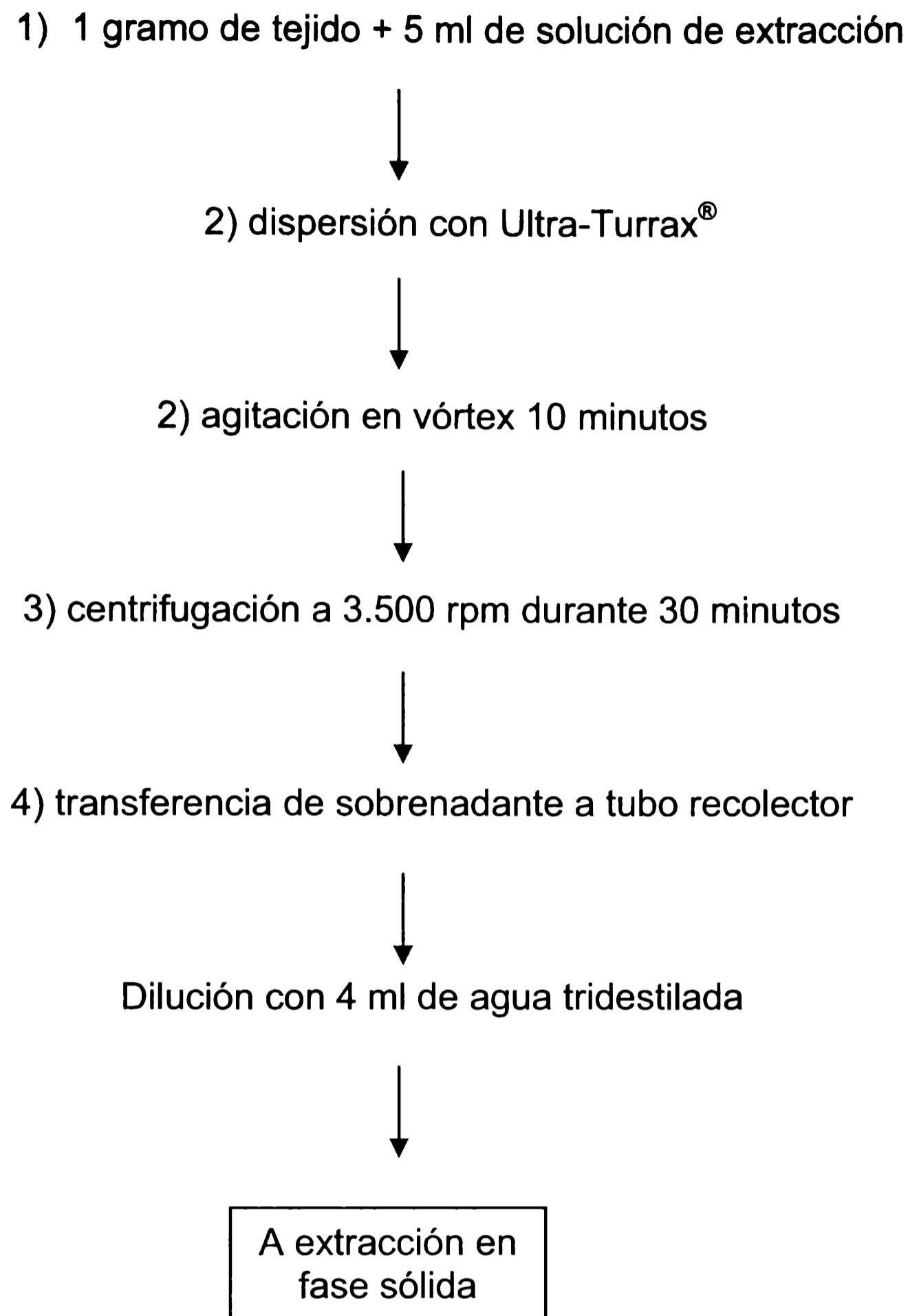


Figura 14. Esquema del método de extracción de enrofloxacin y cirpofloxacin a partir de tejidos

La siguiente etapa de extracción se llevó a cabo con cartuchos de extracción en fase sólida (3 ml, 200 mg). Antes de la siembra de las muestras en los cartuchos, cada uno de ellos fue acondicionado con 3 ml de metanol, 3 ml de agua tridestilada y 3 ml de solución de ácido tricloroacético al 5 %. La siembra de cada muestra se hizo con la ayuda de vacío, utilizando para tal fin un dispositivo diseñado especialmente y comercializado por la empresa proveedora de los cartuchos. La siembra se realizó en forma lenta, a un flujo no mayor a 0.5 ml/min. El lavado posterior se efectuó con 2 ml de la solución de ácido tricloroacético al 5 %, 2 ml de agua tridestilada y 2 ml de hexano en forma sucesiva. Luego se secaron los cartuchos utilizando vacío por 3 min. Para la elución se utilizaron 3 ml de una solución de acetonitrilo y ácido ortofosfórico 0.5 M en relación 70:30 vol/vol. El producto eluído fue evaporado hasta desecación en baño termostático a 50°C y bajo un flujo suave de nitrógeno. El residuo fue reconstituído en 0.25 ml de fase móvil y agitado por 5 minutos. Previa homogeneización, 100 µl del extracto disuelto fueron inyectados al cromatógrafo (Fig. 15).

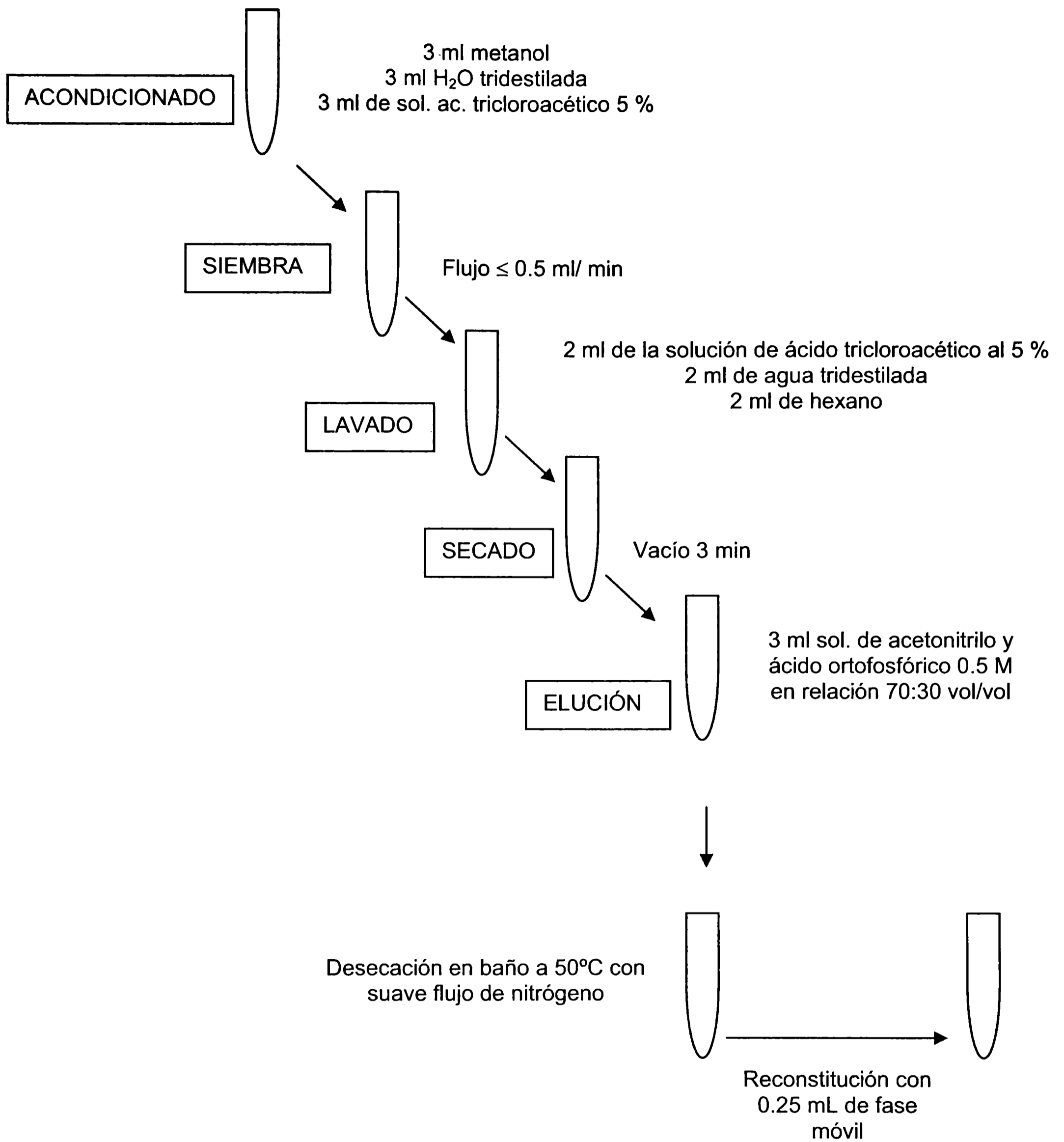


Figura 15. Esquema de la extracción en fase sólida de enrofloxacin y ciprofloxacin a partir de tejidos

#### IV.2.2.2.2. Análisis cromatográfico

- Fase móvil: acetonitrilo y agua (18:82), con 0.3% de trietilamina y 0.35 % de ácido ortofosfórico, más 550 mg por litro de heptasulfonato de sodio.
- Elución isocrática
- Flujo: 1.5 ml/min.
- Columna LiChrospher® 100 RP-18 5 µm, 125 mm x 4 mm
- Precolumna LiChrospher® 100 RP C<sub>18</sub> 4 x 4 mm
- Detección: fluorescente (excitación a 278 nm, emisión a 446 nm)
- Volumen inyectado; 100 µl
- Temperatura: ambiente

La cuantificación de los resultados se realizó en función de las áreas bajo los picos cromatográficos mediante interpolación con los valores obtenidos en la recta de calibrado. Se utilizaron ciprofloxacina y enrofloxacina como patrón externo. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado y el valor final utilizado fue la media de las dos concentraciones obtenidas.

#### IV.2.2.2.3. Validación del método

Para validar el método analítico utilizado se calculó el límite de detección y se realizaron pruebas de linealidad, reproducibilidad y recuperabilidad en plasma.

Las soluciones stock de 1 mg/ml de enrofloxacina y ciprofloxacina respectivamente fueron preparadas en una mezcla de partes iguales de acetonitrilo e hidróxido de sodio 0.1 M.

Las soluciones de trabajo de enrofloxacina y ciprofloxacina de 0.05, 0.10, 0.25, 0.5 y 1 µg/ml respectivamente, fueron preparadas diariamente a partir de las soluciones stock. Las soluciones para enriquecimiento de muestras (0.5, 1, 2.5, 5 y 10 µg/ml) fueron preparadas del mismo modo.

El límite de detección para enrofloxacina y ciprofloxacina respectivamente se calculó en base a 3.3 veces el desvío estándar de soluciones patrones blanco. El límite de cuantificación para enrofloxacina y ciprofloxacina respectivamente se calculó en base a diez veces el desvío estándar de soluciones patrones blanco.



Para los estudios de linealidad se prepararon por duplicado muestras blanco de cada tejido, enriquecidas con enrofloxacin y ciprofloxacina a concentraciones de 0.05, 0.10, 0.25, 0.5 y 1 µg/ml respectivamente. La recta de calibrado fue caracterizada por su coeficiente de regresión, pendiente e intercepción y los datos de concentraciones y áreas bajo la curva se ajustaron a una recta por regresión lineal.

La repetibilidad del método se obtuvo analizando por duplicado 5 concentraciones durante 4 días consecutivos, y calculando los coeficientes de variación interdía e intradía. La recuperabilidad se calculó a partir de muestras de plasma ovino enriquecidas con enrofloxacin y ciprofloxacina a concentraciones finales de 0.1, 0.5 y 1 µg/ml para cada droga, y procesadas por el método cromatográfico utilizado para las muestras problema. Los valores del área bajo la curva obtenidos se compararon con los obtenidos con las mismas concentraciones de las drogas en soluciones preparadas en acetonitrilo e hidróxido de sodio 0.1 M, y se calcularon los porcentajes de recuperación.

La cuantificación de los resultados del análisis cromatográfico de las muestras se realizó por interpolación de la recta de calibrado.

## V. Resultados

## **V. Resultados**

### **V.1. Procedimiento analítico**

#### **V.1.1. Cinética plasmática**

##### **V.1.1.1. Tiempos de retención**

En las condiciones analíticas empleadas, los tiempos de retención para enrofloxacin y ciprofloxacina fueron  $4.9 \pm 0.49$  min y  $7.6 \pm 0.81$  min respectivamente ( $n > 600$ ). No se observaron interferencias con los picos cromatográficos.

##### **V.1.1.2. Repetibilidad**

Se estudiaron las variaciones inter e intra día para enrofloxacin como para la ciprofloxacina, a las siguientes concentraciones: 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5 y 10 mg/mL. Las medias de los coeficientes de variación intradía fueron de 6.74 y 6.89 para la ciprofloxacina y la enrofloxacin respectivamente. Los coeficientes de variación interdía fueron de 12.21 % y 13.32 % para la ciprofloxacina y la enrofloxacin respectivamente (Tablas II, III y IV del anexo).

##### **V.1.1.3. Límite de detección y cuantificación**

Los límites de detección y cuantificación para la ciprofloxacina y la enrofloxacin fueron de 0.03 - 0.05 y 0.05 - 0.1  $\mu\text{g/ml}$ , respectivamente.

##### **V.1.1.4. Recuperabilidad**

Los porcentajes de recuperación de las drogas a partir de muestras de plasma ovino estuvieron próximos al 80 % tanto para la ciprofloxacina como para la enrofloxacin (Tablas V, VI, VII, VIII, IX, X, XI y XII del anexo).

#### V.1.1.5. Linealidad

La curva de calibración para enrofloxacin fue caracterizada por su coeficiente de correlación ( $r = 0.998$ ), pendiente ( $5.128E-06$ ) e intercepción ( $0.0857$ ), y fue usada para determinar la concentración del analito en las muestras y los límites de detección. A su vez, la curva de calibración para la ciprofloxacina fue caracterizada por un coeficiente de correlación de  $0.996$ , una pendiente igual a  $5.466E-06$ , y una intercepción de  $0.09$ . La relación fue lineal entre  $0.1$  y  $10$  mg/mL para ambas drogas. (Fig. 15 y 16)

Figura 15. Recta de calibración mediante ajuste lineal del área bajo la curva (ABC) de concentraciones plasmáticas de enrofloxacin frente a la concentración (0.1 – 10  $\mu\text{g/ml}$ )

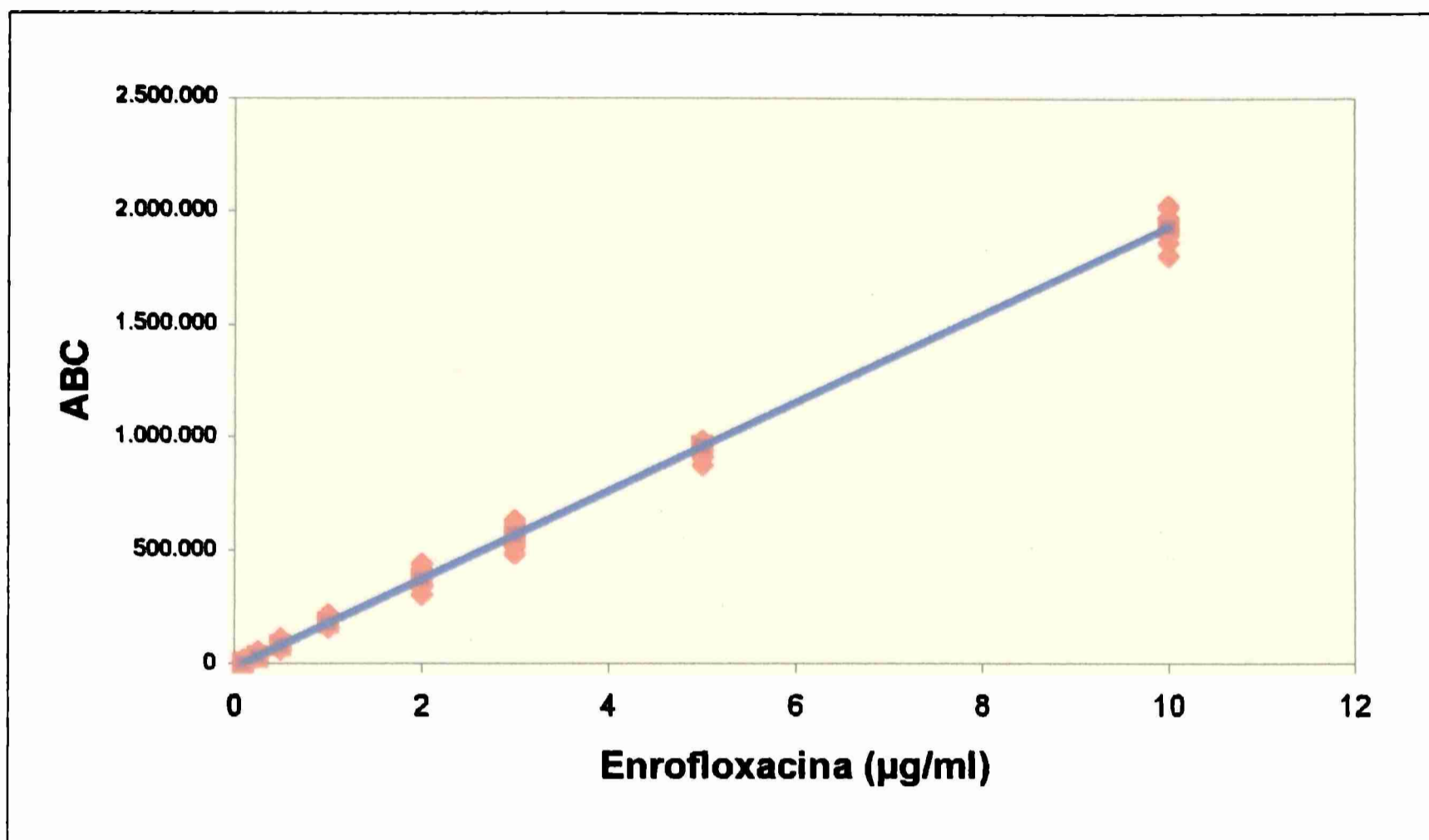
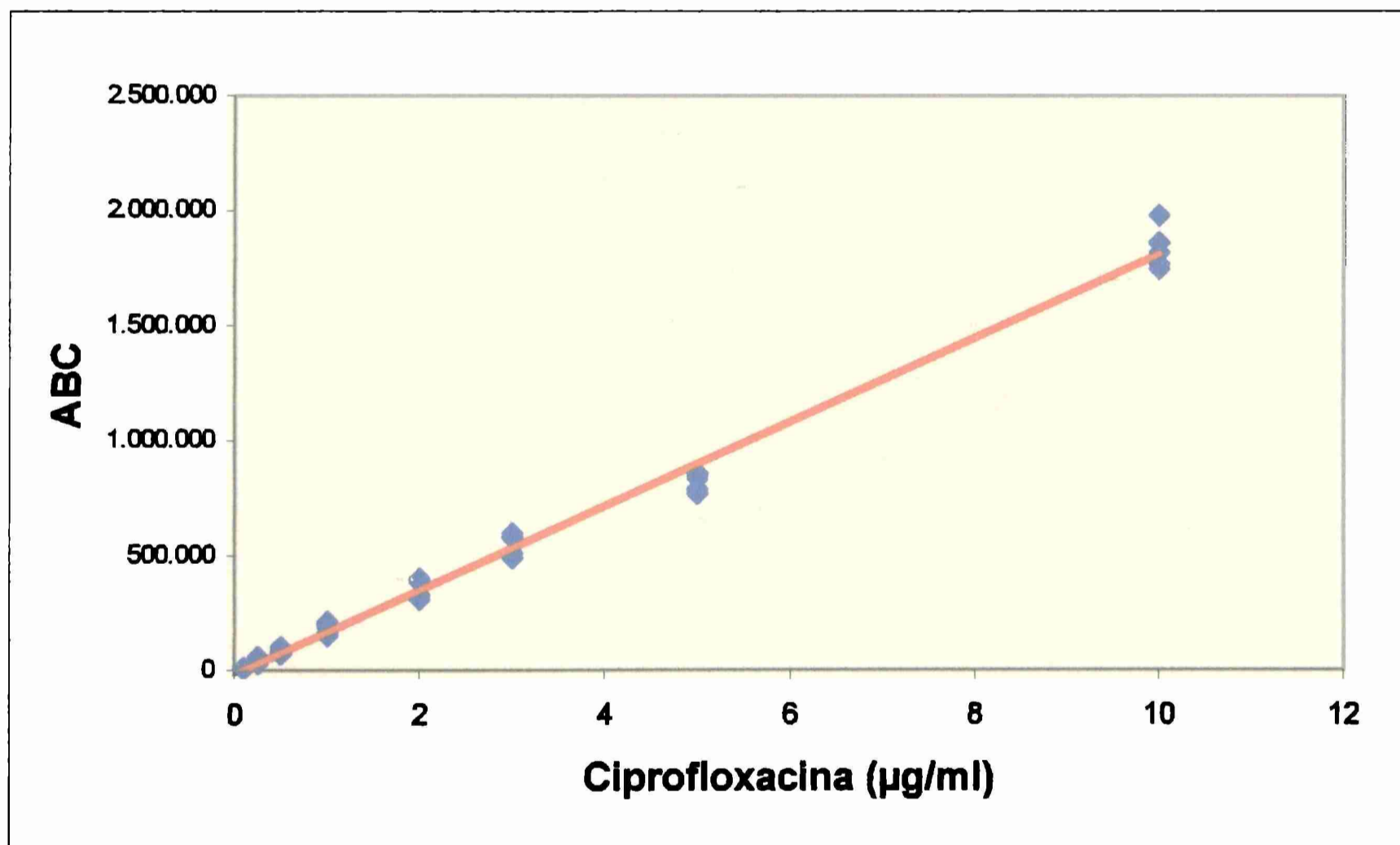


Figura 16. Recta de calibración mediante ajuste lineal del área bajo la curva (ABC) de concentraciones plasmáticas de ciprofloxacina frente a la concentración (0.1 – 10  $\mu\text{g/ml}$ )



## **V.1.2. Tejidos**

No se obtuvieron buenos resultados con las muestras de grasa, debido a la dificultad de su procesamiento, y a la gran variabilidad encontrada entre los valores correspondientes a una misma concentración de las drogas. Se realizaron los estudios de validación con resultados inadecuados, particularmente en repetibilidad y recuperabilidad. Finalmente, se decidió no considerar este tejido.

### **V.1.2.1. Repetibilidad**

Se estudiaron las variaciones interdía para la enrofloxacin para concentraciones de 0.05, 0.1, 0.25 y 0.5 mg/mL. Las medias de los coeficientes de variación para riñón, músculo e hígado se muestran en la tabla 14. Los coeficientes de variación para cada una de las concentraciones ensayadas, y para cada tejidos, se muestran en las tablas XIII, XIV y XV del anexo.

### **V.1.2.2. Límite de detección y cuantificación**

El límite de detección para la enrofloxacin y la ciprofloxacina fue de 0.030 µg/ml, y el límite de cuantificación para ambas drogas fue 0.05 µg/ml.

### **V.1.2.3. Recuperabilidad**

Los porcentajes medios de recuperación de ciprofloxacina y enrofloxacin a partir de los distintos tejidos se muestran en la tabla 15. Los porcentajes de recuperación para cada concentración y órgano se pueden ver en las tablas XVI, XVII, XVIII, XIX, XX y XXI del anexo.

### **V.1.2.4. Linealidad**

La curva de calibración para enrofloxacin fue caracterizada por su coeficiente de correlación, pendiente e intercepción (tabla 16 y figuras 17, 18 y 19), y fue usada para determinar la concentración del analito en las muestras y los límites de detección. Los valores de los coeficientes de correlación para la enrofloxacin fueron 0.993, 0.994 y 0.998 para músculo, hígado y riñón, respectivamente. Para ciprofloxacina fueron 0.992, 0.992 y 0.988 para músculo, hígado y riñón, respectivamente.

Tabla 14: Variabilidad (coeficientes de variación) entre determinaciones cromatográficas de enrofloxacin y ciprofloxacina a distintas concentraciones y en distintos órganos

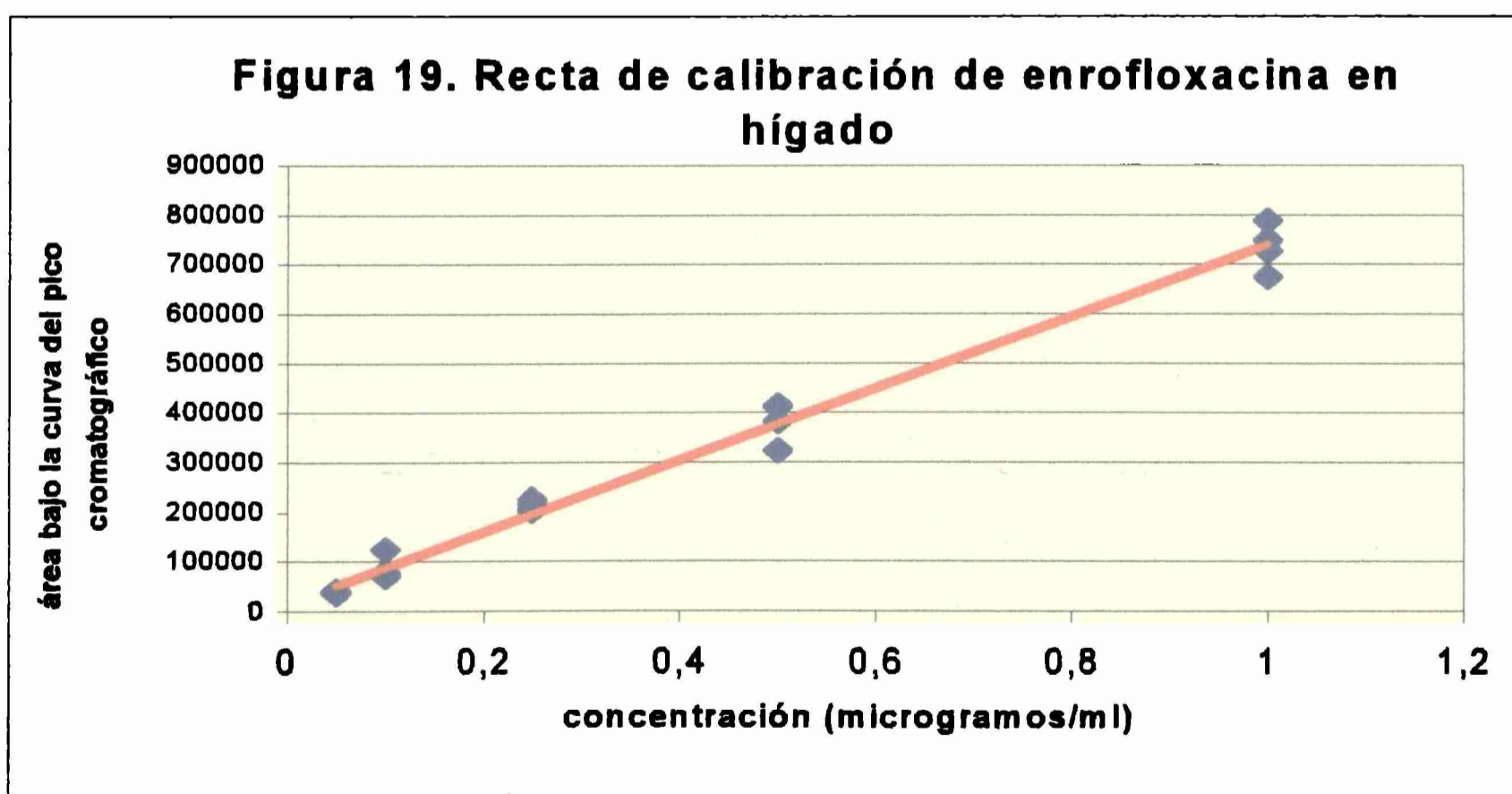
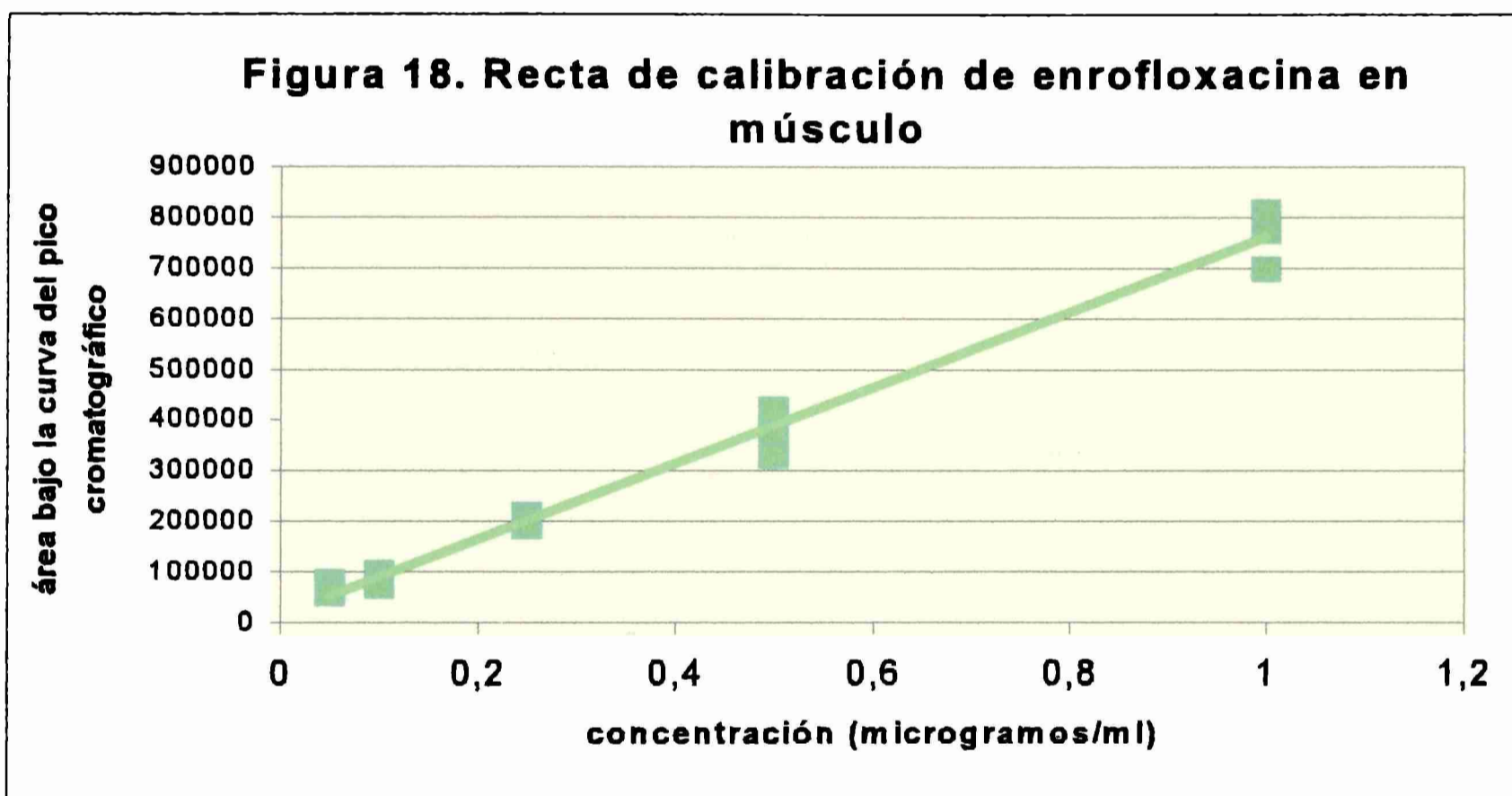
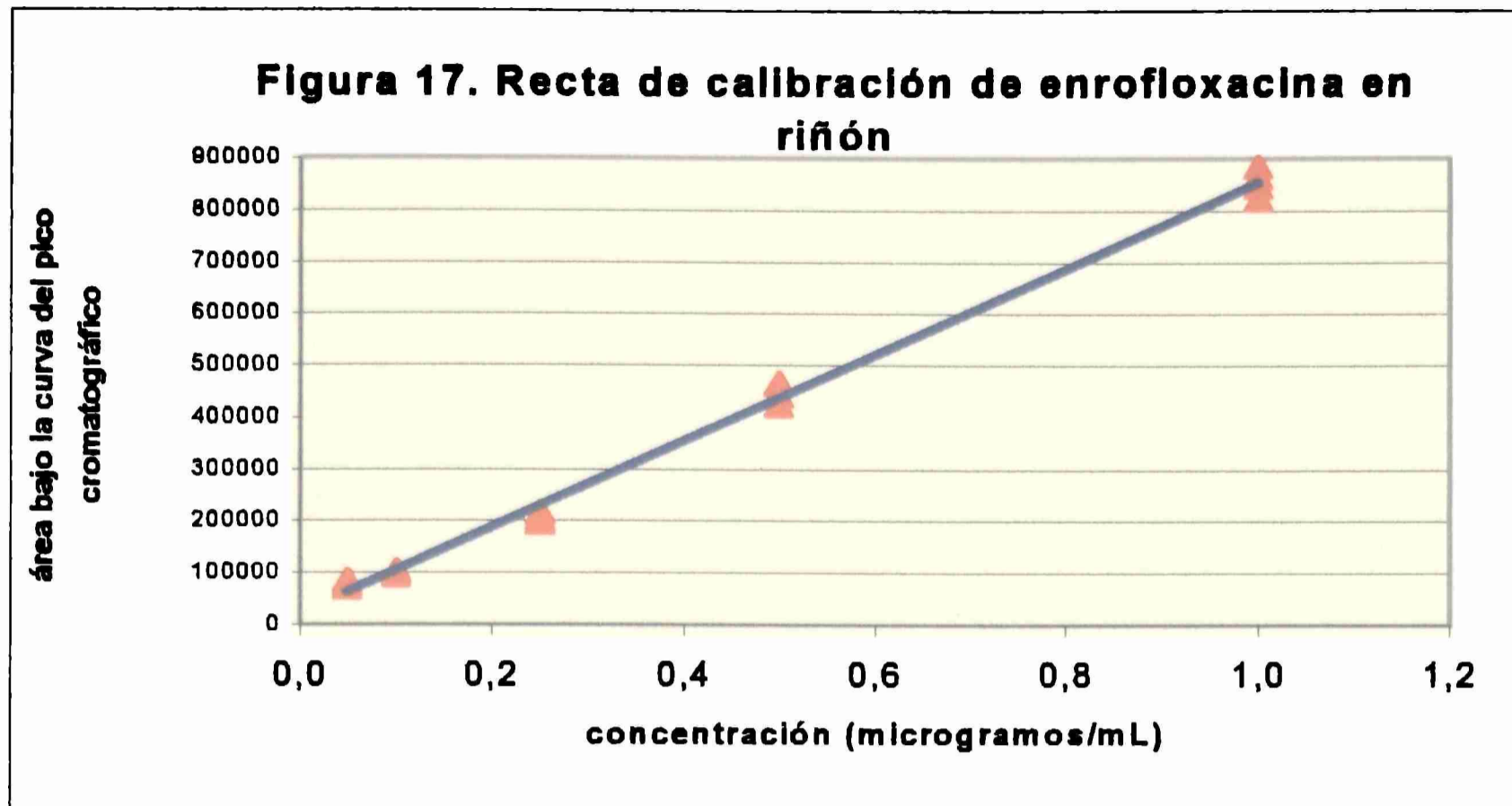
	ciprofloxacina					Enrofloxacin				
	0.05	0.1	0.25	0.5	1	0.05	0.1	0.25	0.5	1
<b>Músculo</b>	17.69	15.75	7.57	4.44	-	13.35	13.60	5.49	6.13	-
<b>Hígado</b>	-	27.82	12.82	5.22	4.61	16.55	28.17	4.44	10.90	6.46
<b>riñón</b>	-	29.46	17.13	7.44	9.88	-	10.97	3.78	3.67	2.59

Tabla 15. Porcentajes medios de recuperación de ciprofloxacina y enrofloxacin a partir de distintos tejidos

	Ciprofloxacina					Enrofloxacin				
	0.05	0.1	0.25	0.5	1	0.05	0.1	0.25	0.5	1
<b>Músculo</b>	62.93	64.55	67.16	78.36	-	54.11	68.94	72.85	70.13	-
media:	<b>68.25</b>					<b>66.51</b>				
<b>hígado</b>	-	75.13	66.71	78.45	81.07	67.71	63.72	79.16	72.05	74.53
media:	<b>75.34</b>					<b>71.43</b>				
<b>riñón</b>	-	54.29	66.99	76.32	80.78	-	66.14	78.73	80.46	84.92
media:	<b>69.59</b>					<b>77.56</b>				

Tabla 16. Valores de intercepción, pendiente y coeficiente de correlación en rectas de calibrado para ciprofloxacina y enrofloxacin en los distintos tejidos

	Ciprofloxacina			Enrofloxacin		
	intercepcion	pendiente	Coef.correl.	intercepcion	pendiente	Coef.correl.
<b>Músculo</b>	0.0019	3.3935E-06	0.991	-0.00394	1.2677E-06	0.993
<b>Hígado</b>	0.00746	3.2596E-06	0.992	-0.0225	1.3729E-06	0.994
<b>riñón</b>	0.0400	3.1525E-06	0.988	-0.0080	1.1776E-06	0.998





## **V.2. Cinética plasmática de la enrofloxacin administrada por la via intravenosa**

### **V.2.1 Curvas de niveles plasmáticos**

Luego de la administración intravenosa de enrofloxacin se obtuvieron las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin y ciprofloxacina que se muestran en las Tablas 17, 18 y 19. Las representaciones de las mismas aparecen en las Figuras 20, 21, 22, 23 y 24.

El metabolito ciprofloxacina representó el 26 % de la droga madre enrofloxacin cuando se compararon los promedios de las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas desde el tiempo cero hasta la última determinación para ambas drogas.

Tabla 17. Concentraciones plasmáticas ( $\mu\text{g/mL}$ ) de enrofloxacin a una dosis de 2,5 mg/kg (n=8)

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
0,042	6,83	6,14	5,84	6,35	7,24	6,78	7,60	7,84
0,083	5,53	5,02	5,30	5,03	5,84	5,22	6,05	6,23
0,166	4,13	3,75	3,89	3,95	3,95	4,83	4,29	4,25
0,25	3,57	3,18	3,72	3,52	3,18	4,00	3,69	3,66
0,333	3,11	2,63	3,63	3,33	2,61	3,26	3,03	3,31
0,5	2,73	2,19	3,25	3,24	2,28	2,89	2,52	2,75
0,666	2,32	1,80	3,04	3,08	1,99	1,91	2,19	2,25
1	1,91	1,26	2,70	2,63	1,68	1,47	1,76	1,86
1,5	1,46	0,85	2,18	2,16	1,27	1,09	1,41	1,27
2	1,17	0,73	1,82	1,82	0,92	0,89	1,03	0,96
3	0,79	0,48	1,40	1,35	0,63	0,41	0,66	0,63
4	0,61	0,27	1,14	1,27	0,44	0,25	0,50	0,39
5	0,52	0,20	0,99	1,25	0,31	0,21	0,40	0,33
6	0,43	0,17	0,88	1,05	0,22	0,17	0,29	0,25
8	0,30	0,14	0,69	0,64	0,14	0,12	0,20	0,19
10	0,25	0,10	0,50	0,54	0,11	0,05	0,18	0,18

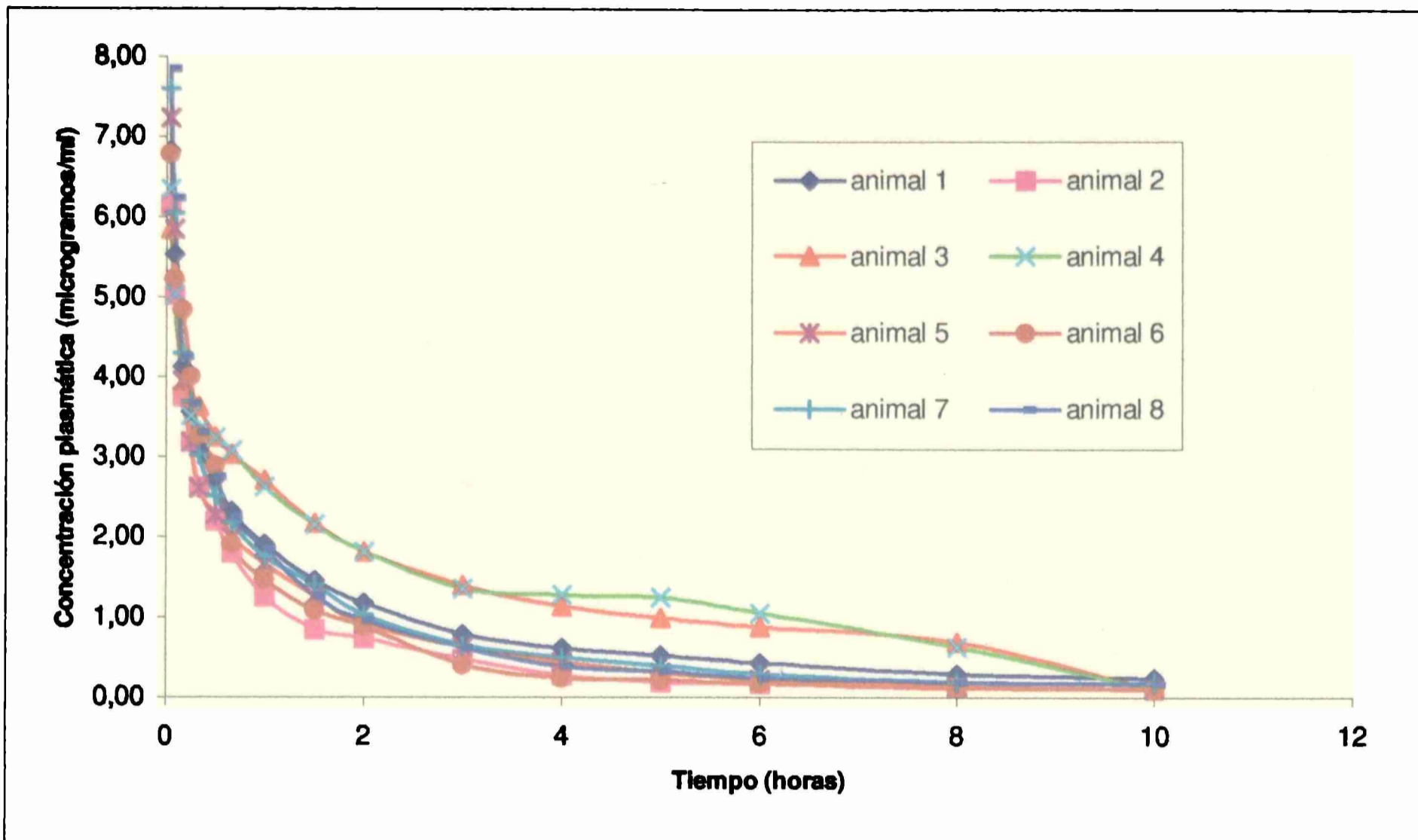


Figura 20. Curvas de los niveles plasmáticos de enrofloxacin en el tiempo, en 8 animales ovinos luego de la administración intravenosa de 2,5 mg/kg de enrofloxacin

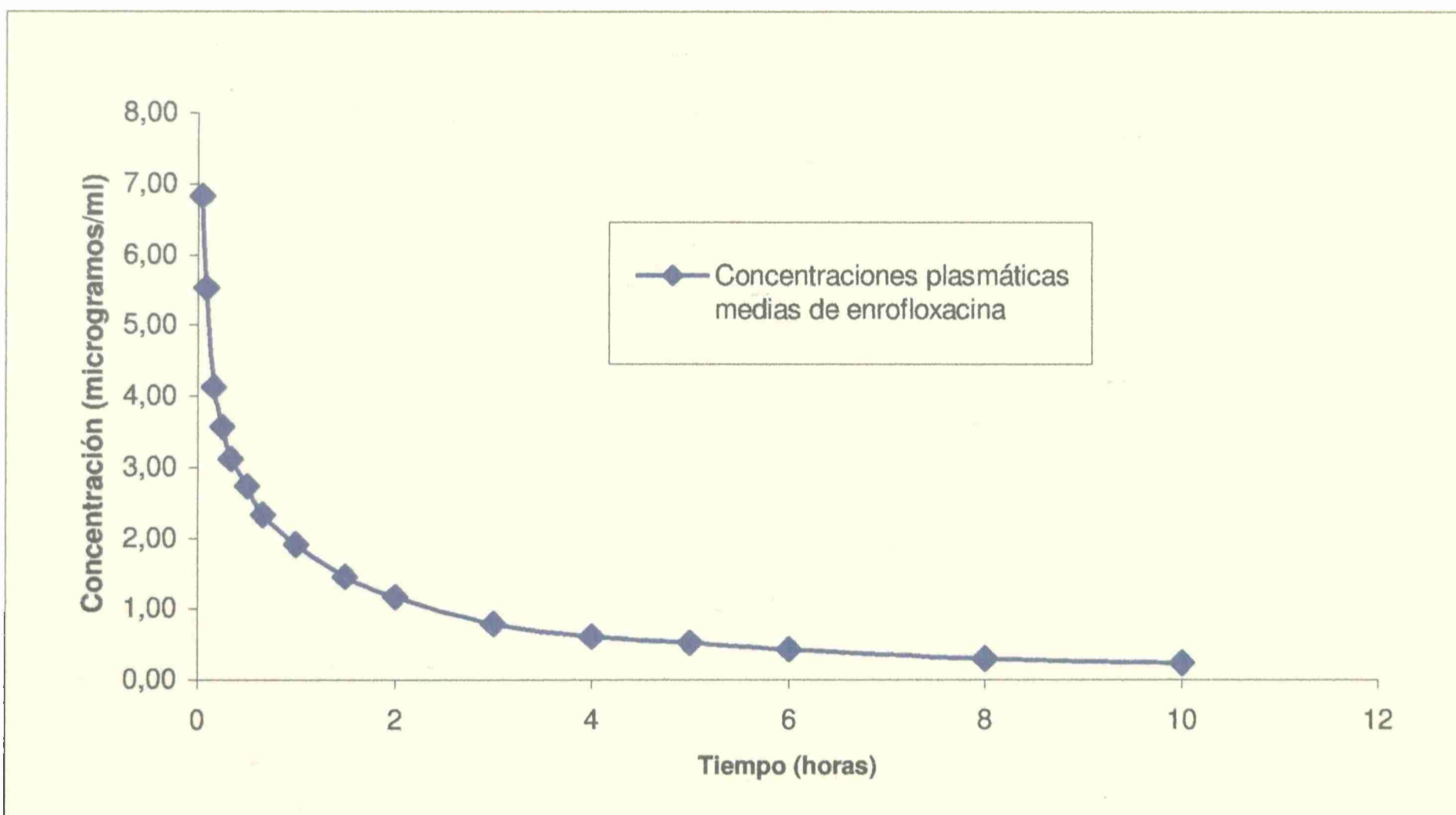


Figura 21: Curvas de la media aritmética de los niveles plasmáticos de enrofloxacin en el tiempo, en 8 animales ovinos luego de la administración intravenosa de 2,5 mg/kg de enrofloxacin

Tabla 18. Concentraciones plasmáticas ( $\mu\text{g/mL}$ ) de ciprofloxacina vs. tiempo en ovinos luego de la administración intravenosa de enrofloxacina a una dosis de 2,5 mg/kg (n=7)

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
0,042	0,05	0,05	0,00	0,09	0,05	0,10	0,09
0,083	0,07	0,05	0,00	0,16	0,09	0,13	0,14
0,166	0,11	0,06	0,10	0,17	0,12	0,14	0,15
0,25	0,13	0,09	0,10	0,18	0,12	0,15	0,17
0,333	0,15	0,13	0,13	0,19	0,16	0,17	0,19
0,5	0,15	0,14	0,16	0,20	0,17	0,22	0,21
0,666	0,16	0,17	0,16	0,21	0,17	0,25	0,23
1	0,19	0,23	0,19	0,25	0,22	0,24	0,26
1,5	0,20	0,22	0,23	0,18	0,26	0,32	0,27
2	0,25	0,22	0,24	0,16	0,23	0,27	0,28
3	0,23	0,18	0,19	0,14	0,21	0,22	0,21
4	0,18	0,15	0,15	0,13	0,16	0,18	0,19
5	0,17	0,12	0,12	0,11	0,14	0,15	0,15
6	0,14	0,10	0,10	0,10	0,12	0,10	0,13
8	0,12	0,05	0,10	0,08	0,10	0,05	0,10
10	0,05	0,01	0,05	0,05	0,05	0,02	0,05

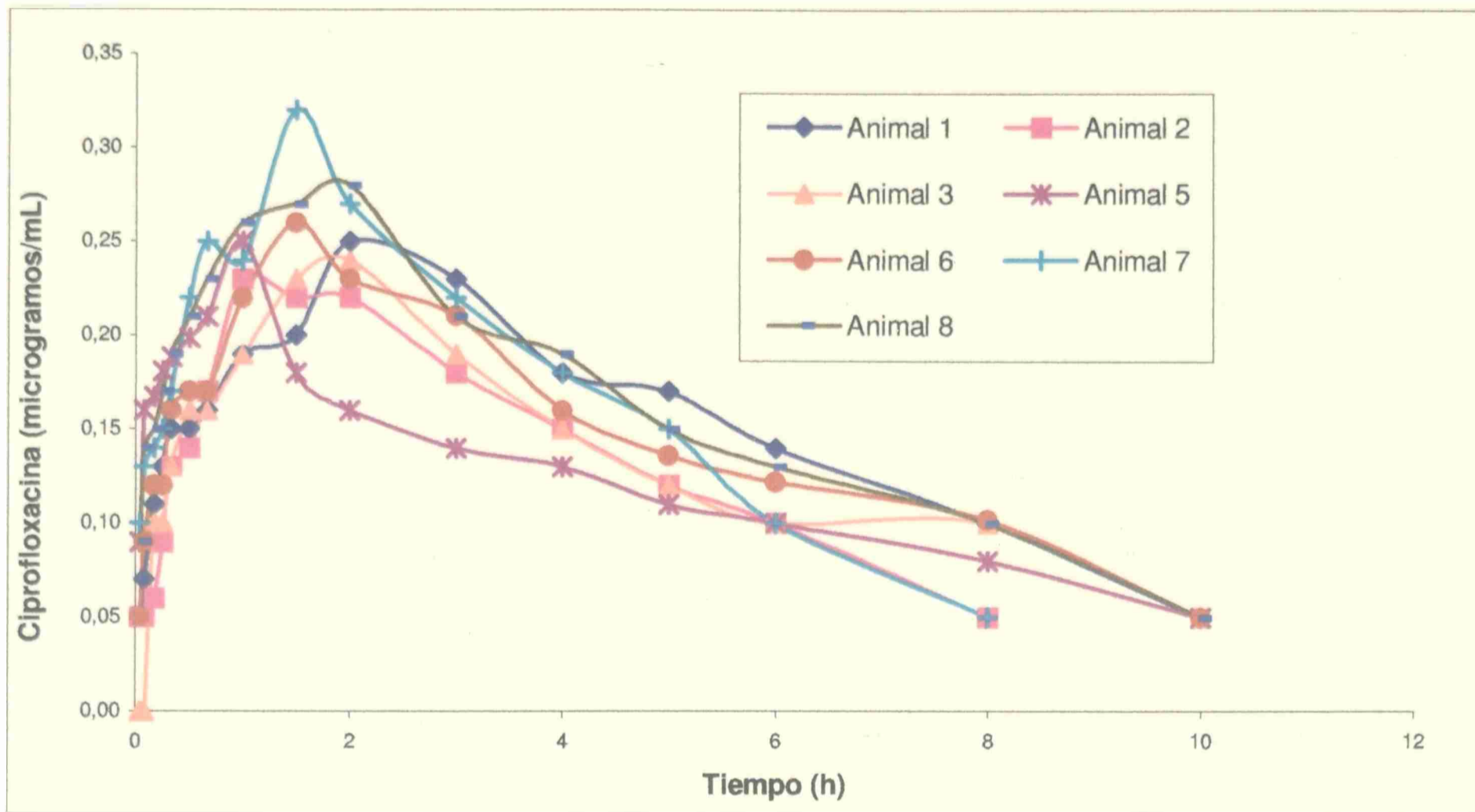


Figura 22: Curvas de los niveles plasmáticos de ciprofloxacina de 8 animales ovinos luego de la administración intravenosa de 2,5 mg/kg de enrofloxacina

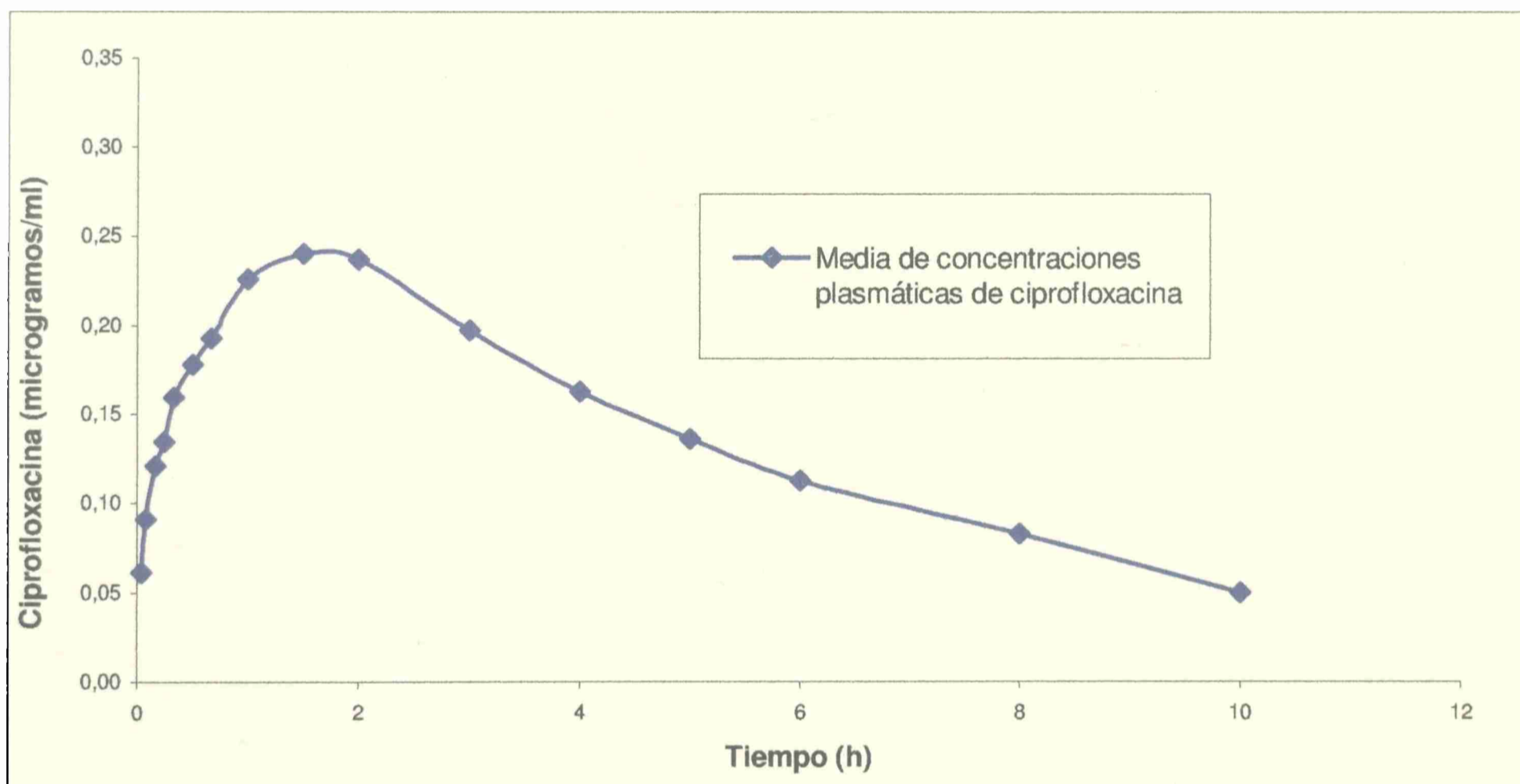


Figura 23: Curvas de la media aritmética de los niveles plasmáticos de ciprofloxacina de 7 animales ovinos luego de la administración intravenosa de 2,5 mg/kg de enrofloxacina

Tabla 19: Promedio de las concentraciones plasmáticas ( $\mu\text{g/mL}$ ) de enrofloxacin, de ciprofloxacina, y de la suma de ambas, en el tiempo, en animales ovinos luego de la administración intravenosa de enrofloxacin a una dosis de 2,5 mg/mL

Tiempo (horas)	Enrofloxacin ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ciprofloxacina ( $\mu\text{g/mL}$ )	Enrofloxacin + Ciprofloxacina ( $\mu\text{g/mL}$ )
0,042	6,83	0,06	6,89
0,083	5,53	0,09	5,62
0,166	4,13	0,12	4,25
0,25	3,57	0,13	3,70
0,333	3,11	0,16	3,27
0,5	2,73	0,18	2,91
0,666	2,32	0,19	2,51
1	1,91	0,23	2,14
1,5	1,46	0,24	1,70
2	1,17	0,24	1,41
3	0,79	0,20	0,99
4	0,61	0,16	0,77
5	0,52	0,14	0,66
6	0,43	0,11	0,54
8	0,30	0,08	0,38
10	0,24	0,05	0,29

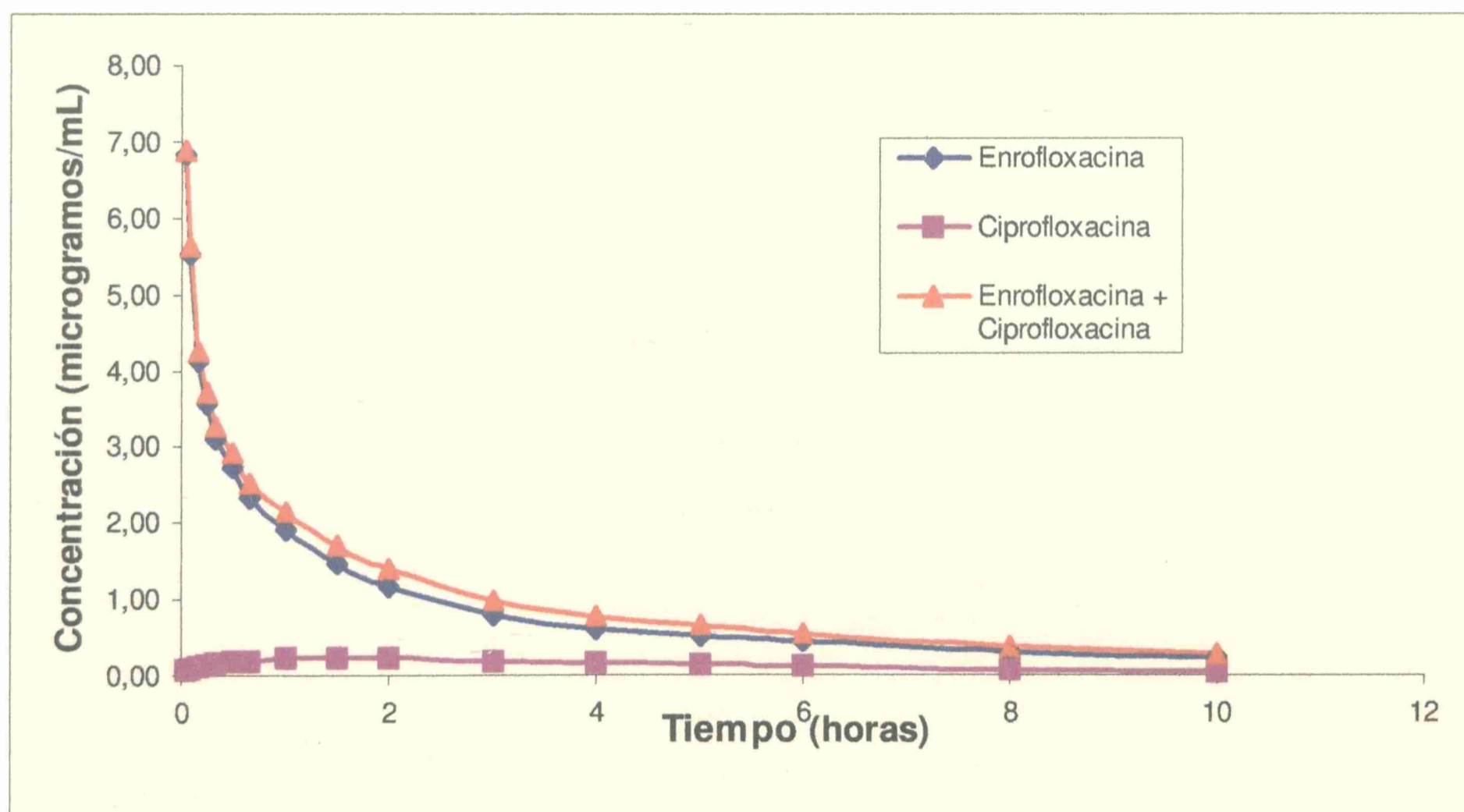


Figura 24: Curvas de la media aritmética de los niveles plasmáticos de enrofloxacin, ciprofloxacina, y enrofloxacin más ciprofloxacina, en animales ovinos luego de la administración intravenosa de 2,5 mg/kg de enrofloxacin

## **V.2.2 Farmacocinética no compartimental**

### **V.2.2.1. Cálculo de parámetros farmacocinéticos con el programa PKCALC**

En la Tabla 20 se describen los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacin, calculados con el programa PKCALC, correspondientes a una administración intravenosa de 2.5 mg/kg. Los valores obtenidos para cada animal se muestran en la tabla XXIII del anexo.

### **V.2.2.2. Cálculo de parámetros farmacocinéticos mediante la utilización de fórmulas clásicas**

En la Tablas 21 y 22 se describen los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacin y ciprofloxacina correspondientes a una administración intravenosa de 2.5 mg/kg de enrofloxacin, calculados mediante las funciones PK de Usansky y colaboradores utilizadas para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales (tabla I del anexo). Los valores obtenidos para cada animal se muestran en la tablas XXIV y XXV del anexo.

Tabla 20: parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa (calculados con PKCALC) (n=8)

Parámetros	Unidad	Media	DE
$ABC_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>8.32</b>	3.28
$ABC_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>8.90</b>	4.02
$ABCM_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>22.67</b>	14.88
$ABCM_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>30.85</b>	25.71
$V_{ss}$	L/kg	<b>0.87</b>	0.08
$\beta$	( $\text{h}^{-1}$ )	<b>1.44</b>	0.47
$T_{1/2\beta}$	h	<b>2.08</b>	0.68
TMR	h	<b>3.02</b>	1.14
CI	L/h/kg	<b>0.33</b>	0.12

$ABC_{(0-t)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t;  $ABC_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito;  $ABCM_{(0-t)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo t;  $ABCM_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito;  $V_{ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario;  $\beta$ : constante híbrida de eliminación;  $t_{1/2\beta}$ : vida media de eliminación; TMR: tiempo máximo de residencia; CI: aclaramiento total.

Tabla 21: parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa (calculados mediante fórmulas clásicas) (n=8)

Parámetros	Unidad	Media	DE
$C_{max}$	$\mu\text{g}/\text{mL}$	<b>6.83</b>	0.71
$ABC_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>8.37</b>	3.23
$ABC_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>9.24</b>	4.14
$ABCM_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>23.11</b>	14.44
$ABCM_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>27.53</b>	19.20
$V_{ss}$	L/kg	<b>0.79</b>	0.16
Constante de eliminación	$\text{h}^{-1}$	<b>0.35</b>	0.09
$T_{1/2\beta}$	h	<b>2.12</b>	0.63
TMR	h	<b>2.75</b>	0.75
CI	ml/h/kg	<b>0.31</b>	0.11

$C_{max}$ : máxima concentración plasmáticas;  $ABC_{(0-t)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t;  $ABC_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito;  $ABCM_{(0-t)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo t;  $ABCM_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito;  $V_{ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario;  $t_{1/2\beta}$ : vida media de eliminación; TMR: tiempo máximo de residencia; CI: aclaramiento total.



Tabla 22: parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ciprofloxacina en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa (calculados mediante fórmulas clásicas) (n=7)

Parámetros	Unidad	Media	DE
$C_{max}$	$\mu\text{g}/\text{mL}$	<b>0.26</b>	0.03
$T_{max}$	h	<b>1.57</b>	0.45
$ABC_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>1.37</b>	0.17
$ABC_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>2.40</b>	0.76
$ABCM_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>5.20</b>	1.01
$ABCM_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>49.46</b>	57.16
Constante de eliminación	$\text{h}^{-1}$	<b>0.07</b>	0.04
$T_{1/2\beta}$	h	<b>14.22</b>	11.29
TMR	h	<b>16.08</b>	13.52

$C_{max}$ : máxima concentración plasmáticas;  $T_{max}$ : tiempo de la máxima concentración plasmáticas;  $ABC_{(0-t)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t;  $ABC_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito;  $ABCM_{(0-t)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo t;  $ABCM_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito;  $t_{1/2\beta}$ : vida media de eliminación; TMR: tiempo máximo de residencia.

### V.2.3 Farmacocinética compartimental

#### V.2.3.1. Ajuste por regresión lineal

Los datos de concentración plasmática de enrofloxacin en el tiempo obtenidos para cada uno de los animales ovinos, luego de la administración intravenosa de 2,5 mg/kg de enrofloxacin, fueron introducidos en el programa de regresión lineal CSTRIP, obteniendo un ajuste a uno, dos y tres términos exponenciales. La discriminación entre los tres modelos se realizó por el método de mínimos cuadrados, el coeficiente de regresión de Pearson, y cuando estos métodos no mostraron diferencia aparentemente significativa entre algunos de los modelos, se utilizó la razón de F.

El ajuste a un solo exponente nunca fue bueno. Sin embargo, los datos mostraron un buen ajuste a 2 y 3 exponentes, tal como los demostraron los respectivos coeficientes de correlación. Para una discriminación final entre los modelos que dieron un buen ajuste determinado por el coeficiente de correlación, se utilizó la razón F. La media de los valores de probabilidad P fue 0.0005 para F, gl1,gl2. (tablas 23, 24 y 25 y tablas XXVI, XXVII y XXVIII del anexo). El test de MAICE confirmó que el mejor modelo fue el expresado por una ecuación triexponencial. (Tabla 26).

Los coeficientes de regresión y valores de F muestran claramente que el modelo que mejor ajusta a los datos, para todos los animales, es el tricompartmental abierto con eliminación de primer orden desde el compartimiento central. Las concentraciones obtenidas se ajustaron para su análisis a un modelo abierto de tres compartimentos, empleando la ecuación:

$$C_p = A e^{-\alpha t} + P e^{-\pi t} + B e^{-\beta t}$$

Donde:

$C_p$  es la concentración de la droga a cualquier tiempo;

$P$ ,  $A$  y  $B$  son las intercepciones al origen (eje Y) de las tres fases de la curva correspondientes a la distribución rápida, la distribución lenta y la eliminación respectivamente, con dimensiones expresadas en  $\mu\text{g/ml}$ ;

$\pi$ ,  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes de las distribución rápida, la distribución lenta y la eliminación respectivamente, con dimensiones expresadas en  $\text{min}^{-1}$ ;

$e$  es la base del logaritmo natural; y

$t$  es el tiempo

Tabla 23. Sumatoria de los cuadrados de las desviaciones de los datos estimados con respecto a los datos experimentales para 1, 2 y 3 exponentes, calculados por análisis de regresión lineal con el programa CSTRIP

	SC monoexponencial	SC biexponencial	SC triexponencial
Animal 1	20.86	0.56	0.02
Animal 2	21.71	0.37	0.04
Animal 3	8.40	0.73	0.27
Animal 4	10.35	0.67	0.12
Animal 5	27.22	0.24	0.04
Animal 6	22.44	0.71	0.45
Animal 7	29.95	0.50	0.06
Animal 8	33.05	1.07	0.08
<b>media</b>	<b>21.75</b>	<b>0.61</b>	<b>0.13</b>

Tabla 24. Coeficientes de regresión ( $r^2$ ) para 1, 2 y 3 exponentes, calculados por análisis de regresión lineal con el programa CSTRIP

	CC Monoexponencial	CC Biexponencial	CC Triexponencial
Animal 1	0,6453	0,9905	0,9996
Animal 2	0,5901	0,9931	0,9992
Animal 3	0,7921	0,9819	0,9934
Animal 4	0,7421	0,9834	0,9962
Animal 5	0,5938	0,9965	0,9995
Animal 6	0,6763	0,9897	0,9936
Animal 7	0,5944	0,9933	0,9992
Animal 8	0,5855	0,9868	0,9990
<b>media</b>	<b>0,6524</b>	<b>0,9894</b>	<b>0,9975</b>

Tabla 25: Razón de F y valores P para discriminar mejor ajuste entre 2 y 3 exponentes

	Razón F	P
Animal 1	315,14	4,35795E-14
Animal 2	109,13	4,0255E-11
Animal 3	22,73	7,4738E-07
Animal 4	60,80	1,6671E-09
Animal 5	58,79	2,0622E-09
Animal 6	7,68	0,00036671
Animal 7	92,66	1,1458E-10
Animal 8	164,60	2,8779E-12
<b>media</b>	<b>103,94</b>	<b>4,5932E-05</b>

Tabla 26: Discriminación de modelos farmacocinéticos por el criterio de información de Akaike (AIC) , para el ajuste de los datos de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin vs. tiempo, luego de la administración intravenosa de enrofloxacin a ovinos, a una dosis de 2,5 ml/kg.

	MONO	BI	TRI
<b>Animal 1</b>	47,57	-4,70	-52,68
<b>Animal 2</b>	48,17	-10,91	-42,28
<b>Animal 3</b>	38,18	-1,35	-16,26
<b>Animal 4</b>	44,07	-3,21	-32,16
<b>Animal 5</b>	58,17	-20,26	-48,72
<b>Animal 6</b>	48,66	-1,14	-5,98
<b>Animal 7</b>	56,39	-7,09	-39,01
<b>Animal 8</b>	57,97	5,08	-34,41
<b>Promedio</b>	<b>49,90</b>	<b>-5,45</b>	<b>-33,94</b>
<b>Desvío</b>	7,14	7,60	15,87

#### V.2.3.1.1. Cálculo de parámetros farmacocinéticos

Para los cálculos de los parámetros farmacocinéticos basados en regresión lineal se utilizaron los datos surgidos del programa CSTRIP (intercepciones, por extrapolación, de las regresiones de cada una de las fases de la curva concentración plasmática-tiempo al tiempo cero A, B y P y constantes híbridas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$ ) y las ecuaciones de Gibaldi (1982), Baggot (1986) y Domenech Berrozpe (1997) para tres compartimientos (Tabla I del anexo). Los datos correspondientes a cada animal se muestran en la Tabla XXIX del anexo. Uno de los animales fue descartado porque los valores de A, B y P estaban extremadamente alejados de la media de los otros siete animales y producía un efecto distorsivo artificial, tal como lo muestra el gráfico de caja (Figuras I y II del anexo). Los promedios de los parámetros farmacocinéticos correspondientes a un modelo tricompartmental lineal para siete animales luego de la administración intravenosa de enrofloxacin a una dosis de 2,5 mg/ml se muestran en la Tabla 27.

Tabla 27. Parámetros farmacocinéticos compartimentales obtenidos con CSTRIP y ecuaciones en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa (n = 7)

Parámetro	unidad	MEDIA	DE
A	µg/ml	<b>5.25</b>	1.32
P	µg/ml	<b>2.68</b>	0.64
B	µg/ml	<b>1.27</b>	0.73
$\alpha$	h-1	<b>13.34</b>	4.01
$\pi$	h-1	<b>1.13</b>	0.32
$\beta$	h-1	<b>0.17</b>	0.03
$t_{1/2\alpha}$	h	<b>0.06</b>	0.01
$t_{1/2\pi}$	h	<b>0.65</b>	0.17
$t_{1/2\beta}$	h	<b>4.13</b>	0.56
$K_{12}$	h-1	<b>5.99</b>	2.38
$K_{21}$	h-1	<b>6.39</b>	2.21
$K_{12} / K_{21}$		<b>0.99</b>	0.31
$K_{13}$	h-1	<b>0.82</b>	0.24
$K_{31}$	h-1	<b>0.46</b>	0.17
$K_{13}/K_{31}$		<b>1.94</b>	0.63
$K_{10}$	h-1	<b>0.99</b>	0.37
$V_c$	L/kg	<b>0.28</b>	0.04
$V_{p2}$	L/kg	<b>0.26</b>	0.06
$V_{p3}$	L/kg	<b>0.52</b>	0.16
$V_{d_{ss}}$	L/kg	<b>1.06</b>	0.14
ABC		<b>10.74</b>	4.63
Cl	L/h·kg	<b>0.27</b>	0.10
Cl <sub>2</sub>	L/h·kg	<b>1.62</b>	0.54
Cl <sub>3</sub>	L/h·kg	<b>0.23</b>	0.07

A, B y P: intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición;  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$ : constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación;  $t_{1/2\alpha}$ , vida media de distribución rápida inicial,  $t_{1/2\pi}$  vida media de distribución lenta,  $t_{1/2\beta}$ , vida media de eliminación;  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{31}$ ,  $k_{13}$ , constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y los compartimientos periféricos;  $k_{10}$ , constante de eliminación del compartimiento central;  $V_c$ , volumen aparente del compartimiento central;  $V_{p2}$ , volumen aparente del compartimiento periférico superficial;  $V_{p3}$ , volumen aparente del compartimiento periférico profundo; Cl, aclaramiento plasmático total; Cl<sub>2</sub>, aclaramiento del compartimiento periférico superficial; Cl<sub>3</sub>, aclaramiento del compartimiento periférico profundo; ABC, área bajo la curva de concentraciones plasmáticas en el tiempo;  $V_{ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario.

### V.2.3.2. Ajuste por regresión no lineal

Los datos de concentración plasmática frente a tiempo de enrofloxacin obtenidos para cada uno de los animales ovinos, luego de la administración intravenosa de 2,5 mg/kg de enrofloxacin, fueron introducidos en el programa de regresión no lineal ADAPT II (D'argenio, D.Z. & Schumitzky, A. 1997), obteniendo un ajuste a uno, dos y tres términos exponenciales. La discriminación entre modelos, realizada por el métodos de mínimos cuadrados, el coeficiente de regresión de Pearson, y el criterio de información de Akaike (AIC) y su adaptación para discriminación de modelos hecha por Yamaoka y col. (1978a), mostró que el modelo abierto de tres compartimientos con eliminación de orden de primer orden desde el compartimiento central es el que mejor ajusta a los datos (Tabla 28 y Tablas XXX y XXXI del anexo). La mejor pesada, establecida a partir a la suma de cuadrados de los residuales obtenidos entre las concentraciones experimentales y teóricas, y del análisis de la dispersión y de la distribución aleatoria de esos residuales alrededor de la abcisa, fue  $1/\sqrt{x}$  (Tabla XXXII y figura III del anexo). Por lo tanto, las concentraciones obtenidas se ajustaron para su análisis a un modelo abierto de tres compartimientos, empleando la ecuación:

$$C_p = P e^{-\pi t} + A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t}$$

Donde:

$C_p$  es la concentración de la droga a cualquier tiempo;

$P$ ,  $A$  y  $B$  intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición, con dimensiones expresadas en  $\mu\text{g/ml}$ ;

$\pi$ ,  $\alpha$  y  $\beta$  son constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación, con dimensiones expresadas en  $\text{min}^{-1}$ ;

$e$  es la base del logaritmo natural; y

$t$  es el tiempo

Tabla 28. Discriminación de modelos farmacocinéticos por el métodos de mínimos cuadrados, el coeficiente de regresión de Pearson, y el criterio de información de Akaike (AIC) , para el ajuste de los datos de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacinina vs. tiempo, luego de la administración intravenosa de enrofloxacinina a ovinos, a una dosis de 2,5 ml/kg.

	Bicompartimental				Tricompartimental			
	Suma de cuadrados	Suma de cuadrados pesada	R <sup>2</sup>	AIC	Suma de Cuadrados	Suma de cuadrados pesada	R <sup>2</sup>	AIC
Animal 1	0.332	0.284	0.994	-12.14	0,016	0,011	1,000	-60.79
Animal 2	0.204	0.179	0.996	-19.56	0,028	0,035	0,999	-41.71
Animal 3	0.524	0.374	0,987	-7.75	0,160	0,078	0,996	-28.82
Animal 4	0.537	0.405	0,987	-6.46	0,119	0,093	0,997	-25.98
Animal 5	0.066	0.080	0,999	-32.33	0,023	0,015	1,000	-55.18
Animal 6	0.640	0.338	0,991	-9.36	0,609	0,302	0,991	-7.17
Animal 7	0.215	0.195	0,997	-18.16	0,057	0,034	0,999	-42.29
Animal 8	0.297	0.310	0,997	-10.74	0,060	0,038	0,999	-40.45
<b>Media</b>	<b>0.352</b>	<b>0,271</b>	<b>0,994</b>	<b>-14.56</b>	<b>0,134</b>	<b>0,076</b>	<b>0,998</b>	<b>-37.80</b>
<b>DE</b>	0.197	0,11	0,005	8.56	0,198	0,096	0,003	17.03



#### **V.2.3.2.1. Cálculo de parámetros farmacocinéticos**

Los parámetros farmacocinéticos, calculados con ADAPT II, correspondientes a un modelo tricompartmental no lineal luego de la administración intravenosa de enrofloxacin a una dosis de 2,5 mg/ml se muestran en la Tabla 29. Los datos discriminados para cada animal se pueden ver en la Tabla XXXIII del anexo.

Tabla 29. Parámetros farmacocinéticos compartimentales no lineales (ADAPT II) en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa (n = 8)

Parámetro	unidad	MEDIA	DE
A	µg/ml	<b>5.13</b>	1.26
P	µg/ml	<b>2.74</b>	0.46
B	µg/ml	<b>0.98</b>	0.57
$\alpha$	h-1	<b>11.76</b>	4.28
$\pi$	h-1	<b>0.97</b>	0.30
$\beta$	h-1	<b>0.16</b>	0.05
$t_{1/2\alpha}$	h	<b>0.07 (0.06*)</b>	0.04
$t_{1/2\pi}$	h	<b>0.76 (0.71*)</b>	0.17
$t_{1/2\beta}$	h	<b>4.57 (4.31*)</b>	1.08
$K_{12}$	h-1	<b>5.16</b>	2.25
$K_{21}$	h-1	<b>5.41</b>	2.12
$K_{12} / K_{21}$		<b>0.97</b>	0.31
$K_{13}$	h-1	<b>0.67</b>	0.24
$K_{31}$	h-1	<b>0.35</b>	0.13
$K_{13} / K_{31}$		<b>1.96</b>	0.64
$K_{10}$	h-1	<b>1.00</b>	0.37
$V_c$	L/kg	<b>0.29</b>	0.04
$V_p 2$	L/kg	<b>0.27</b>	0.06
$V_p 3$	L/kg	<b>0.55</b>	0.12
$V_{d_{ss}}$	L/kg	<b>1.10</b>	0.09
$Cl_{total}$	ml/h·kg	<b>0.29</b>	0.11
$Cl 2$	ml/h·kg	<b>1.44</b>	0.59
$Cl 3$	ml/h·kg	<b>0.19</b>	0.07

( \* ) media armónica

A, B y P: intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición;  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$ : constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación;  $t_{1/2\alpha}$ , vida media de distribución rápida inicial,  $t_{1/2\pi}$  vida media de distribución lenta,  $t_{1/2\beta}$ , vida media de eliminación;  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{31}$ ,  $k_{13}$ , constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y los compartimientos periféricos;  $k_{10}$ , constante de eliminación del compartimiento central;  $V_c$ , volumen aparente del compartimiento central;  $V_p 2$ , volumen aparente del compartimiento periférico superficial;  $V_p 3$ , volumen aparente del compartimiento periférico profundo;  $Cl$ , aclaramiento plasmático total;  $Cl_2$ , aclaramiento del compartimiento periférico superficial;  $Cl_3$ , aclaramiento del compartimiento periférico profundo; ABC, área bajo la curva de concentraciones plasmáticas en el tiempo;  $V_{ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario.

### **V.3. Cinética plasmática de la enrofloxacin administrada por la vía intramuscular**

#### **V.3.1. Curvas de niveles plasmáticos**

Tras la administración intramuscular de enrofloxacin se obtuvieron las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin y ciprofloxacina que se muestran en las Tablas 30, 31 y 32. Las representaciones de las mismas aparecen en las Figuras 25, 26, 27, 28 y 29.

El metabolito ciprofloxacina representó el 34 % de la droga madre enrofloxacin cuando se compararon los promedios de las áreas bajo las curvas de las concentraciones plasmáticas desde el tiempo cero hasta la última determinación para ambas drogas.

LABLA 30. Concentraciones plasmáticas (µg/mL) de enrofloxacina vs. tiempo en ovinos luego de la administración intramuscular de enrofloxacina a una dosis de 2,5 mg/kg

Tiempo	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
0,125	1,50	1,50	0,94	0,89	1,39	1,25	2,12	1,74
0,25	2,15	1,80	1,34	1,27	2,03	1,78	3,03	2,49
0,5	1,85	1,57	1,67	1,42	2,19	1,88	3,34	3,58
1	1,36	1,06	2,11	1,12	1,90	1,64	2,72	3,32
1,5	0,97	0,92	1,82	0,87	1,46	1,16	1,91	2,74
2	0,74	0,67	1,67	0,61	1,18	0,85	1,52	2,27
3	0,33	0,52	0,99	0,42	0,70	0,42	1,03	1,39
4	0,25	0,36	0,95	0,29	0,54	0,38	0,80	1,07
5	0,15	0,29	0,81	0,19	0,44	0,21	0,64	0,91
6	0,10	0,16	0,67	0,14	0,35	0,15	0,48	0,77
8	0,10	0,12	0,48	0,08	0,27	0,05	0,32	0,53
10	0,05	0,10	0,42		0,13		0,23	0,43

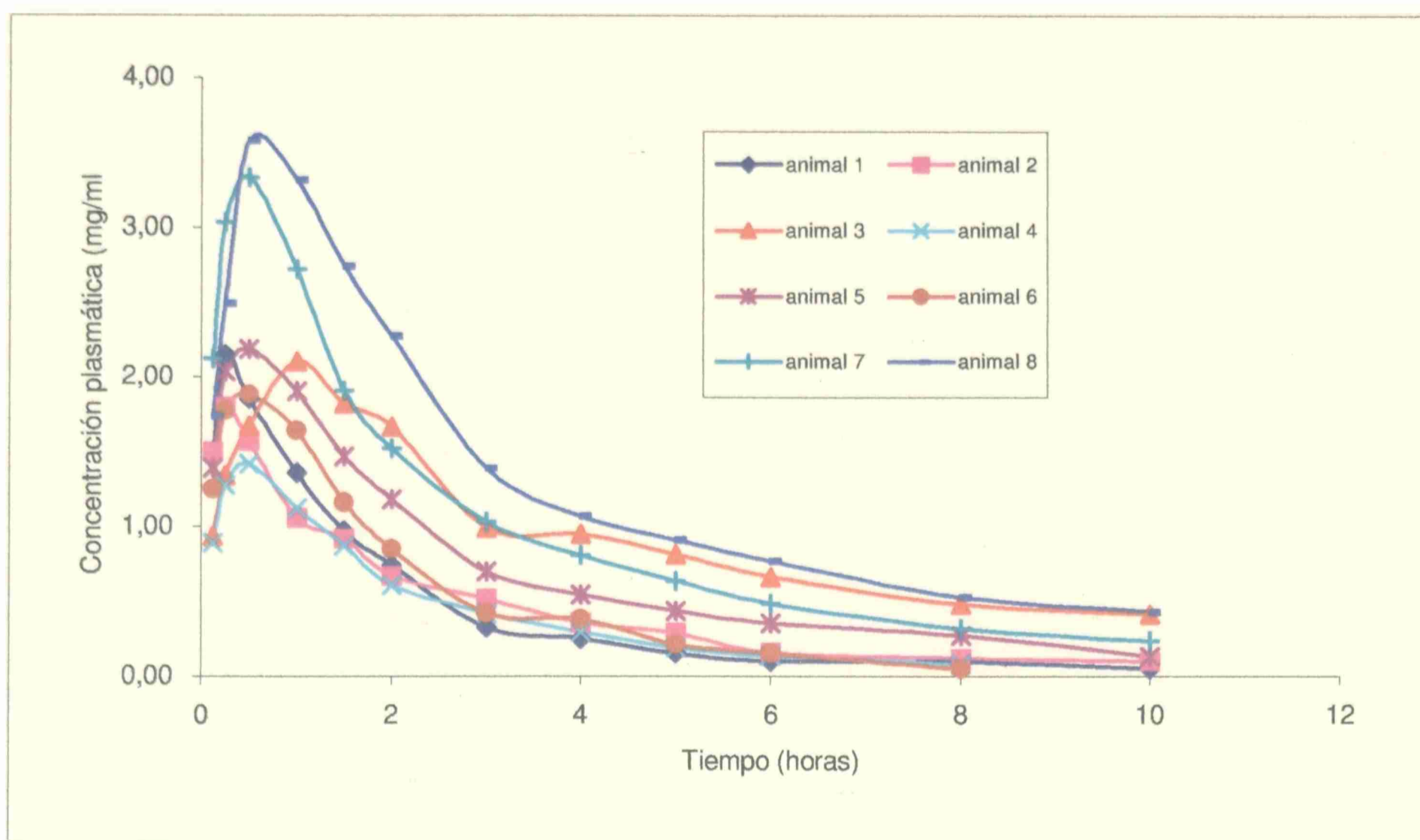


Figura 25. Curvas de los niveles plasmáticos medios de enrofloxacin obtenidos de promediar las concentraciones obtenidas en 8 ovinos luego de la administración intramuscular de 2,5 mg/kg de enrofloxacin

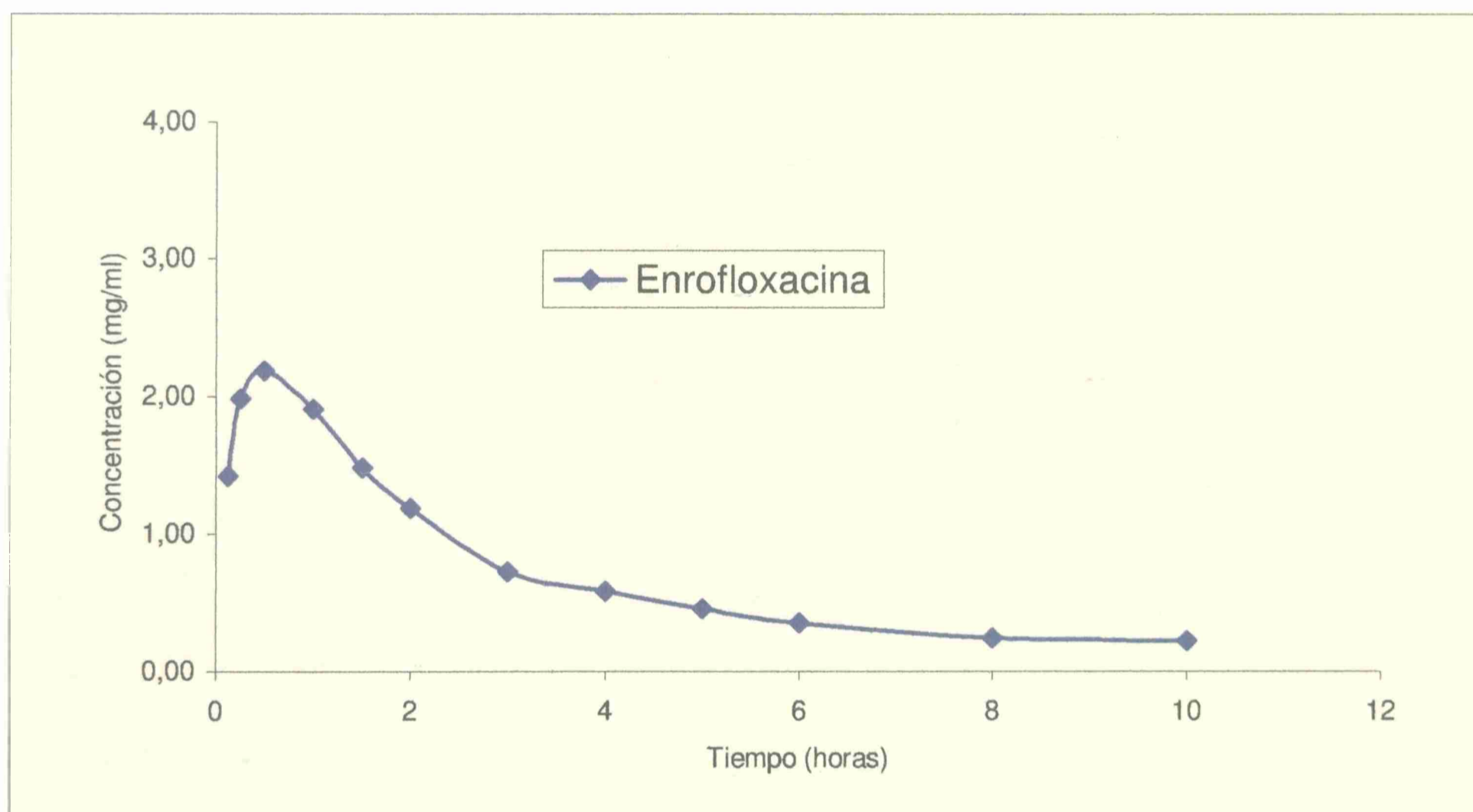


Figura 26. Curvas de los niveles plasmáticos medios de de enrofloxacin obtenidos de promediar las concentraciones obtenidas de 8 animales luego de la administración intramuscular de 2,5 mg/kg de enrofloxacin

Tabla 31. Concentraciones plasmáticas ( $\mu\text{g/mL}$ ) individuales de ciprofloxacina vs. tiempo en ovinos luego de la administración intramuscular de enrofloxacina a una dosis de 2,5 mg/kg

Tiempo	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
0,125	0,05	0,05	0,08	0,06	0,00	0,12	0,16	0,09
0,25	0,13	0,12	0,13	0,14	0,05	0,10	0,20	0,12
0,5	0,15	0,16	0,14	0,13	0,07	0,11	0,22	0,16
1	0,17	0,17	0,16	0,14	0,15	0,17	0,26	0,17
1,5	0,16	0,19	0,19	0,16	0,19	0,21	0,23	0,19
2	0,18	0,20	0,20	0,15	0,21	0,20	0,21	0,22
3	0,17	0,16	0,24	0,13	0,22	0,16	0,20	0,17
4	0,13	0,17	0,21	0,13	0,20	0,15	0,18	0,15
5	0,15	0,15	0,20	0,16	0,19	0,12	0,15	0,12
6	0,11	0,14	0,19	0,10	0,16	0,07	0,13	0,08
8	0,12	0,11	0,14	0,08	0,13	0,05	0,11	0,05
10	0,05	0,05	0,07	0,05	0,05		0,07	

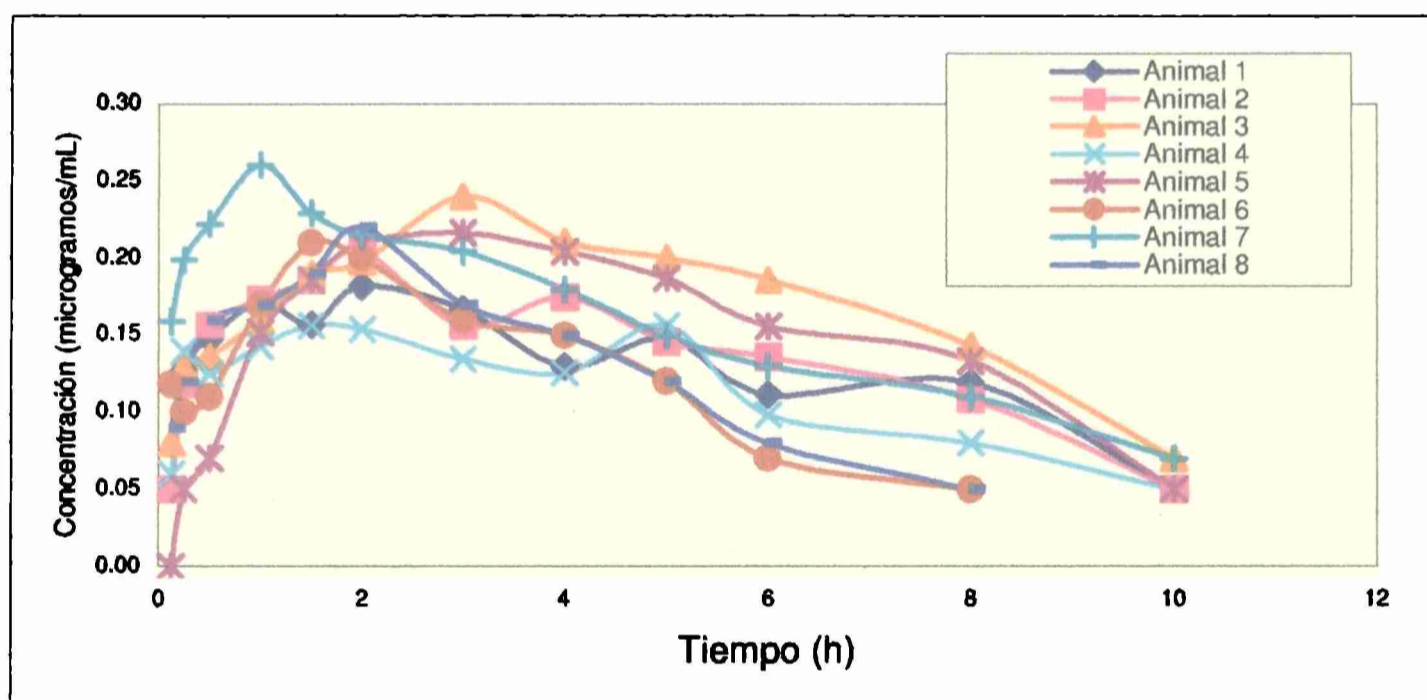


Figura 27. Representación de los niveles plasmáticos individuales de ciprofloxacina obtenidos en 8 ovinos luego de la administración intramuscular de 2,5 mg/kg de enrofloxacina

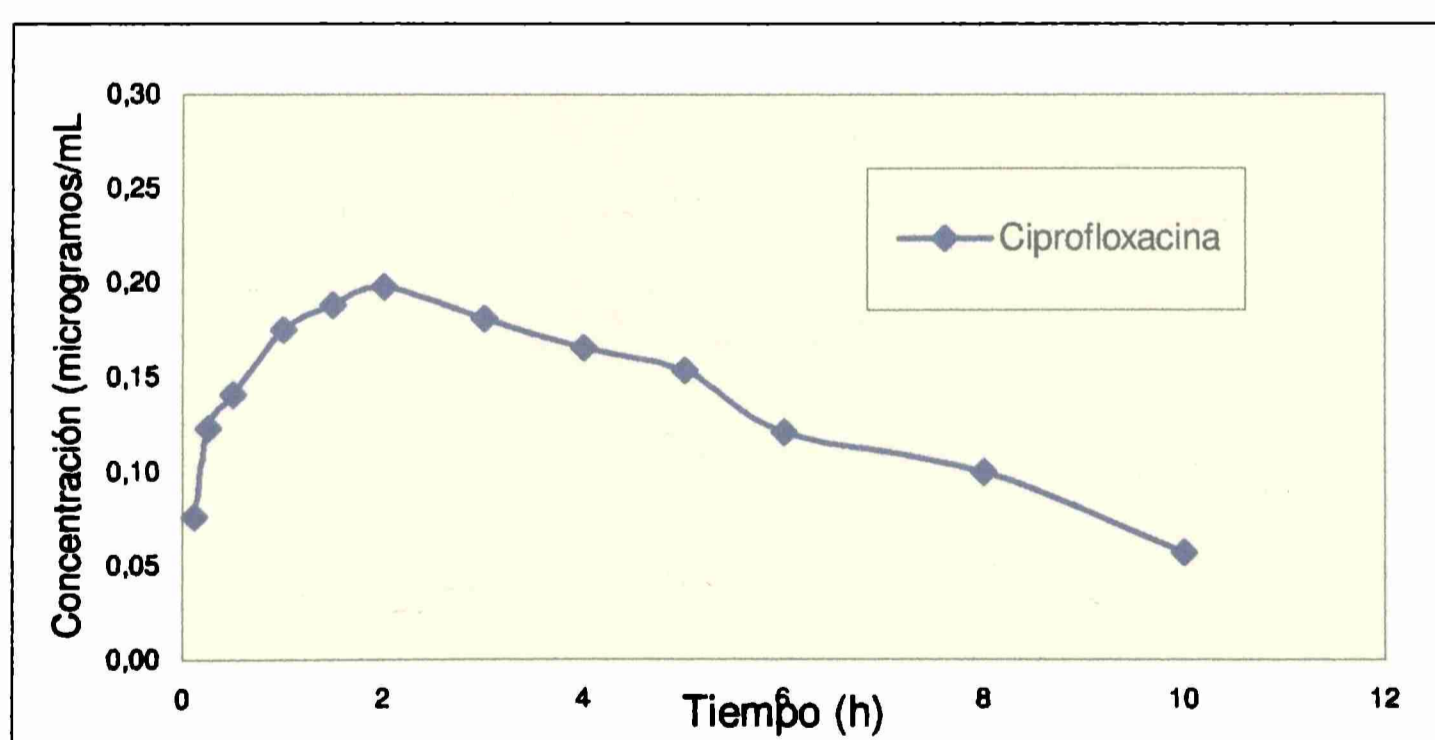


Figura 28. Representación de los niveles plasmáticos medios de ciprofloxacina obtenidos en 8 ovinos luego de la administración intramuscular de 2,5 mg/kg de enrofloxacina

Tabla 32. Promedios de las concentraciones plasmáticas ( $\mu\text{g/mL}$ ) de enrofloxacin y ciprofloxacina vs. tiempo en ovinos luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2,5 mg/mL

Tiempo (horas)	Enrofloxacin ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ciprofloxacina ( $\mu\text{g/mL}$ )	Enrofloxacin + Ciprofloxacina ( $\mu\text{g/mL}$ )
0,125	1,42	0,08	1,50
0,25	1,99	0,12	2,11
0,5	2,19	0,14	2,33
1	1,90	0,18	2,08
1,5	1,48	0,19	1,67
2	1,19	0,20	1,39
3	0,72	0,18	0,90
4	0,58	0,17	0,75
5	0,45	0,15	0,60
6	0,35	0,12	0,47
8	0,24	0,10	0,34
10	0,23	0,06	0,29

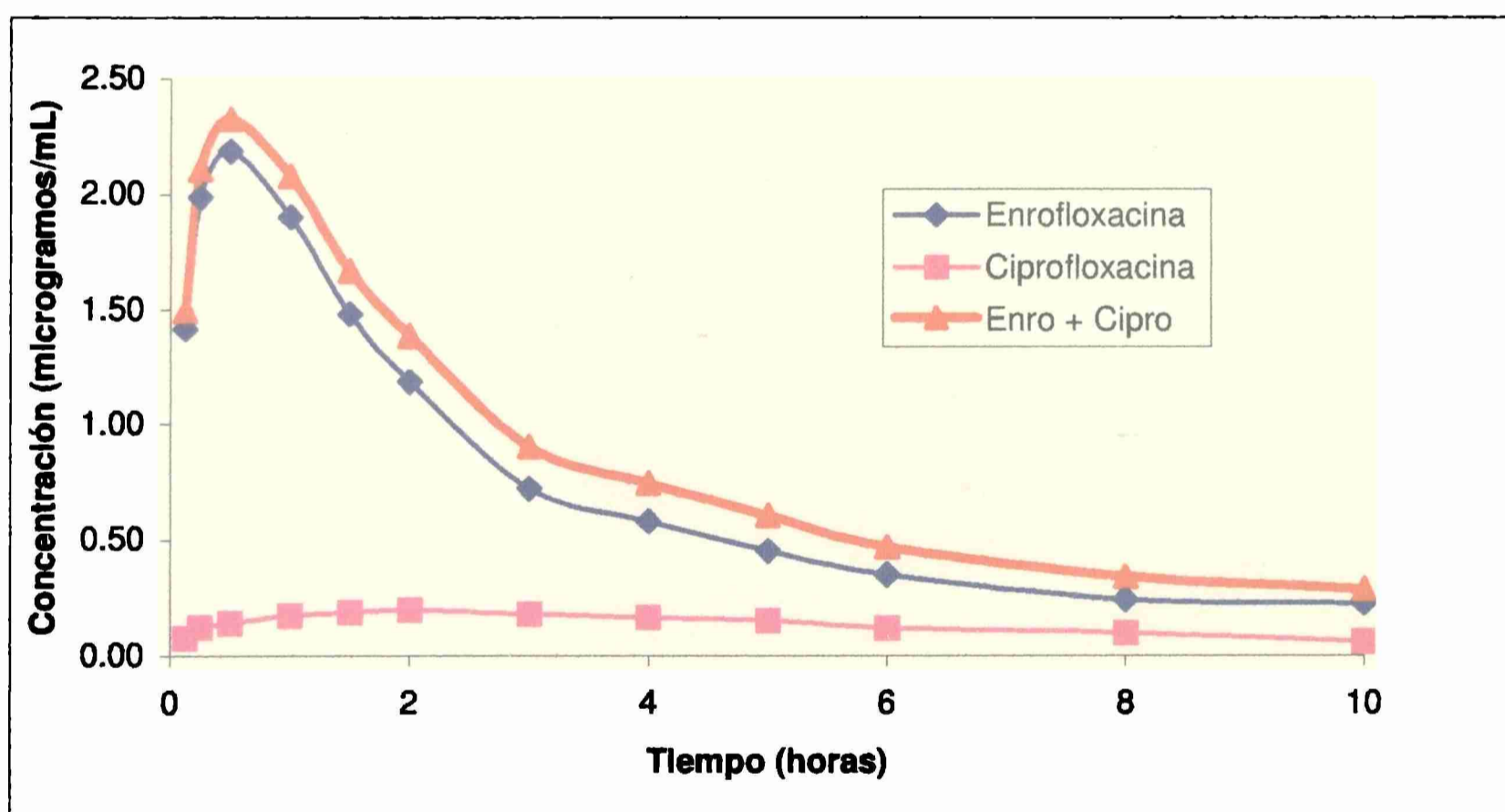


Figura 29. Curvas representando la media aritmética de los niveles plasmáticos de enrofloxacin, ciprofloxacina, y enrofloxacin más ciprofloxacina, obtenidas en 8 ovinos luego de la administración intramuscular de 2,5 mg/kg de enrofloxacin

### **V.3.2 Farmacocinética no compartimental**

#### **V.3.2.1. Cálculo de parámetros farmacocinéticos con el programa PKCALC**

En la Tabla 33 se describen los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacin, calculados con el programa PKCALC, correspondientes a una administración intramuscular de 2.5 mg/kg. Los valores obtenidos para cada animal se muestran en la tabla XXXIV del anexo.

#### **V.3.2.2. Cálculo de parámetros farmacocinéticos mediante de la utilización de fórmulas clásicas**

En la Tabla 34 y 35 se describen los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacin y ciprofloxacina, calculados con las fórmulas clásicas detalladas en el anexo, correspondientes a una administración intramuscular de 2.5 mg/kg de enrofloxacin. Los valores obtenidos para cada animal se muestran en la tabla XXXV y XXXVI del anexo. Las ecuaciones utilizadas se muestran en la tabla I del anexo.



Tabla 33. Parámetros farmacocinéticos medios, obtenidos a través de la utilización de modelos no compartimentales en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intramuscular (calculados con PKCALC)

Parámetros	unidad	Media	DE
TMR	h	<b>1.83</b>	0.80
$T_{1/2\beta}$	h	<b>2.57</b>	1.09
$\beta$	$h^{-1}$	<b>1.78</b>	0.75
$ABC_{(0-t)}$	$\mu g \cdot h/ml$	<b>6.75</b>	3.39
$ABC_{(0-\infty)}$	$\mu g \cdot h/ml$	<b>7.58</b>	4.15
$ABCM_{(0-t)}$	$\mu g \cdot h \cdot h/ml$	<b>19.45</b>	13.12
$ABCM_{(0-\infty)}$	$\mu g \cdot h \cdot h/ml$	<b>31.78</b>	28.27
Cl	L/h/kg	<b>0.38</b>	0.18
$V_{ss}$	L/kg	<b>0.80</b>	0.59

TMR: tiempo medio de residencia;  $t_{1/2\beta}$ : vida media de eliminación,  $\beta$ : constante híbrida de eliminación;  $ABC_{(0-t)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t;  $ABC_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito;  $ABCM_{(0-t)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo t;  $ABCM_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; Cl<sub>total</sub>: aclaramiento total;  $V_{ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario.

Tabla 34. Parámetros farmacocinéticos medios, obtenidos a través de la utilización de modelos no compartimentales en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intramuscular (calculados mediante las ecuaciones descriptas en el anexo)

Parámetros	unidad	Media	DE
$C_{max}$	$\mu g/mL$	<b>2.31</b>	0.76
$T_{max}$	h	<b>0.50</b>	0.23
TMR	h	<b>3.74</b>	1.52
$T_{1/2\beta}$	h	<b>2.58</b>	1.08
Constante de eliminación	$h^{-1}$	<b>0.30</b>	0.10
$ABC_{(0-t)}$	$\mu g \cdot h/ml$	<b>6.80</b>	3.35
$ABC_{(0-\infty)}$	$\mu g \cdot h/ml$	<b>7.68</b>	4.23
$ABCM_{(0-t)}$	$\mu g \cdot h \cdot h/ml$	<b>19.77</b>	12.79
$ABCM_{(0-\infty)}$	$\mu g \cdot h \cdot h/ml$	<b>33.27</b>	29.33
Cl	L/h/kg	<b>0.42</b>	0.20
$V_{ss}$	L/kg	<b>1.35</b>	0.39

TMR: tiempo medio de residencia;  $t_{1/2\beta}$ : vida media de eliminación,  $\beta$ : constante híbrida de eliminación;  $ABC_{(0-t)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t;  $ABC_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito;  $ABCM_{(0-t)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo t;  $ABCM_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; Cl<sub>total</sub>: aclaramiento total;  $V_{ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario.

Tabla 35. Parámetros farmacocinéticos medios de ciprofloxacina, obtenidos a través de la utilización de modelos no compartimentales en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intramuscular (calculados a través de las ecuaciones descritas en el anexo)

Parámetros	unidad	Media	DE
$C_{max}$	$\mu\text{g/mL}$	<b>0.21</b>	0.03
$T_{max}$	h	<b>2.00</b>	0.71
TMR	h	<b>18.60</b>	13.68
$T_{1/2\beta}$	h	<b>15.93</b>	11.79
Const. ante de eliminación	$\text{h}^{-1}$	<b>0.06</b>	0.04
$ABC_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>1.32</b>	0.26
$ABC_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>2.61</b>	1.27
$ABCM_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>5.53</b>	1.61
$ABCM_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{h}/\text{ml}$	<b>63.07</b>	74.40

TMR: tiempo medio de residencia;  $t_{1/2\beta}$ : vida media de eliminación,  $\beta$ : constante híbrida de eliminación;  $ABC_{(0-t)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t;  $ABC_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito;  $ABCM_{(0-t)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo t;  $ABCM_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito.

### V.3.3. Farmacocinética compartimental

#### V.3.3.1. Ajuste por regresión lineal

Los datos de concentración plasmática frente a tiempo de enrofloxacin obtenidos para cada uno de los ovinos, luego de la administración intramuscular de 2,5 mg/kg de enrofloxacin, fueron introducidos en el programa de regresión lineal CSTRIP, obteniendo un ajuste a dos y tres términos exponenciales. La discriminación entre los dos modelos se realizó por el método de mínimos cuadrados, el coeficiente de regresión de Pearson y, cuando estos métodos no mostraron diferencia aparentemente significativa entre algunos de los modelos, se utilizó la razón de F.

La sumatoria de cuadrados de las desviaciones entre las concentraciones observadas y estimadas, los coeficientes de regresión, y los valores de F, y el test de MAICE, muestran claramente que el modelo que mejor ajusta a los datos, para todos los animales, es el bicompartimental abierto con absorción de primer orden desde el compartimiento central (tablas 36, 37, 38 y 39, y tablas XXXVII y XXXVIII del anexo).

Las concentraciones obtenidas se ajustaron para su análisis a un modelo abierto de dos compartimentos, empleando la ecuación:

$$C_p = A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t} - P \cdot e^{-k_a t}$$

Donde:

$C_p$  es la concentración de la droga a cualquier tiempo;  
 $P$ ,  $A$  y  $B$  son las intercepciones al origen (eje Y) de las tres fases de la curva correspondientes a la absorción, la distribución y la eliminación respectivamente, con dimensiones expresadas en  $\mu\text{g/ml}$ ;  
 $k_a$ ,  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes de absorción, de distribución y de eliminación respectivamente, con dimensiones expresadas en  $\text{min}^{-1}$ ;  
 $e$  es la base del logaritmo natural; y  $t$  es el tiempo

Tabla 36. Sumatoria de los cuadrados de las desviaciones de los datos estimados con respecto a los datos experimentales para 2 y 3 exponentes, calculados por análisis de regresión lineal con el programa CSTRIP

	<b>SC Biexponencial</b>	<b>SC Triexponencial</b>
Animal 1	11.3710	0.0205
Animal 2	5.2373	0.0139
Animal 3	0.2823	0.1251
Animal 4	0.0573	0.0034
Animal 5	8.7081	0.0348
Animal 6	0.0658	0.0390
Animal 7	20.0901	0.0231
Animal 8	1.5488	0.0885
<b>media</b>	<b>5.9201</b>	<b>0.0435</b>

Tabla 37. Coeficientes de regresión ( $r^2$ ) para 2 y 3 exponentes, calculados por análisis de regresión lineal con el programa CSTRIP

	<b>CR Biexponencial</b>	<b>CR triexponencial</b>
Animal 1	-0.8196	0.9967
Animal 2	-0.2924	0.9966
Animal 3	0.9154	0.9625
Animal 4	0.9747	0.9987
Animal 5	-0.4520	0.9944
Animal 6	0.9861	0.9918
Animal 7	-0.5152	0.9983
Animal 8	0.8965	0.9941
<b>media</b>	<b>0.2117</b>	<b>0.9916</b>

Tabla 38. Razon de F para discriminar mejor ajuste entre 2 y 3 exponentes

	<b>Razón F</b>	<b>P</b>
Animal 1	7202	6.61E-23
Animal 2	4891	8.17E-22
Animal 3	16	5.37E-06
Animal 4	208	6.46E-13
Animal 5	3238	1.19E-20
Animal 6	9	1,60E-04
Animal 7	11317	3.51E-24
Animal 8	214	5.24E-13
<b>media</b>	<b>3387</b>	<b>2.19E-05</b>

Tabla 39. Discriminación de modelos farmacocinéticos por el criterio de información de Akaike (AIC) , para el ajuste de los datos de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin vs. tiempo, luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a ovinos, a una dosis de 2,5 ml/kg.

	<b>Monoexponencial</b>	<b>Biexponencial</b>
<b>Animal 1</b>	33,17	-40,65
<b>Animal 2</b>	23,87	-45,31
<b>Animal 3</b>	-11,18	-18,94
<b>Animal 4</b>	-30,31	-62,21
<b>Animal 5</b>	29,97	-34,30
<b>Animal 6</b>	-28,65	-32,93
<b>Animal 7</b>	40,00	-39,22
<b>Animal 8</b>	9,55	-23,10
<b>Media</b>	<b>8,3027</b>	<b>-37,0812</b>

#### **V.3.3.1.1. Cálculo de parámetros farmacocinéticos**

Para los cálculos de los parámetros farmacocinéticos basados en regresión lineal se utilizaron los datos obtenidos por medio del programa CSTRIP (intercepciones, por extrapolación, de las regresiones de cada una de las fases de la curva concentración plasmática-tiempo al tiempo cero A, B y P y constantes híbridas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$ ) y las ecuaciones de Gibaldi (1982), Baggot (1986) y Domenech-Berrozpe-Plá Delfina (1997) para dos compartimientos (Tabla I del anexo). Los parámetros farmacocinéticos correspondientes a un modelo bicompartimental abierto luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2,5 mg/ml se muestran en la Tabla 40. Los datos correspondientes a cada animal se muestran en la Tabla XXXIX del anexo.

Tabla 40. Parámetros farmacocinéticos compartimentales obtenidos por medio del programa CSTRIP en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intramuscular (n = 8)

Parámetro	unidad	MEDIA	DE
A	μg/ml	<b>3.72</b>	3.88
P	μg/ml	<b>-4.47</b>	4.64
B	μg/ml	<b>1.30</b>	0.57
$\alpha$	h-1	<b>1.13</b>	0.18
$k_{abs}$	h-1	<b>6.78</b>	5.04
$\beta$	h-1	<b>0.38</b>	0.39
$t_{1/2\alpha}$	h	<b>0.63</b>	0.10
$t_{1/2\beta}$	h	<b>2.80</b>	1.35
$k_{12}$	h-1	<b>0.28</b>	0.18
$k_{21}$	h-1	<b>0.62</b>	0.33
$k_{12} / k_{21}$		<b>0.64</b>	0.58
$k_{10}$	h-1	<b>0.61</b>	0.21
$V_c$	L/kg	<b>0.72</b>	0.34
$V_p$	L/kg	<b>0.36</b>	0.23
$V_{d_{ss}}$	L/kg	<b>1.08</b>	0.50
$V_{d_{\text{área}}}$	L/kg	<b>1.47</b>	0.83
Cl	ml/h·kg	<b>0.41</b>	0.18

A, P y B: intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición;  $\alpha$  y  $\beta$  constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación;  $k_{abs}$ : constante de absorción;  $t_{1/2\alpha}$  vida media de distribución,  $t_{1/2\beta}$  vida media de eliminación;  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ , constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y el compartimiento periférico;  $k_{10}$ , constante de eliminación del compartimiento central;  $V_c$ , volumen aparente del compartimiento central;  $V_p$ : volumen periférico;  $V_{d_{ss}}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario;  $V_{d_{\text{área}}}$ , volumen aparente de distribución calculado por el método del área; Cl, aclaramiento total;

### V.3.3.2. Ajuste por regresión no lineal

Los datos de concentración plasmática frente a tiempo de enrofloxacin obtenidos para cada uno de los ovinos, luego de la administración intramuscular de 2,5 mg/kg de enrofloxacin, fueron introducidos en el programa de regresión no lineal ADAPT II (D'argenio, D.Z. & Schumitzky, A. 1997), obteniendo un ajuste a dos y tres términos exponenciales. La discriminación entre modelos, realizada por el métodos de mínimos cuadrados, el coeficiente de regresión de Pearson, y el criterio de información de Akaike (AIC) y su adaptación para discriminación de modelos hecha por Yamaoka y col. (1978a), mostró que el modelo abierto de dos compartimientos con absorción de primer orden desde el compartimiento central es el que mejor ajusta a los datos (Tabla 41 y Tabla XL y XLI del anexo). La mejor pesada, establecida a partir a la suma de cuadrados de los residuales obtenidos entre las concentraciones experimentales y teóricas, y del análisis de la dispersión y de la distribución aleatoria de esos residuales alrededor de la abcisa, fue  $1/\sqrt{x}$  (Tabla XLII y Figura IV del anexo). Por lo tanto, las concentraciones obtenidas se ajustaron para su análisis a un modelo abierto de dos compartimientos, empleando la ecuación:

$$C_p = A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t} - P \cdot e^{-k_a t}$$

Donde:

$C_p$  es la concentración de la droga a cualquier tiempo;

$P$ ,  $A$  y  $B$  intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición, con dimensiones expresadas en  $\mu\text{g/ml}$ ;

$\pi$ ,  $\alpha$  y  $\beta$  son constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación, con dimesiones expresadas en  $\text{min}^{-1}$ ;

$e$  es la base del logaritmo natural; y

$t$  es el tiempo



Tabla 41. Discriminación de modelos farmacocinéticos por el métodos de mínimos cuadrados, el coeficiente de regresión de Pearson, y el criterio de información de Akaike (AIC) , para el ajuste de los datos de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin vs. tiempo, luego de la administración intramuscular de esta droga a ovinos, a una dosis de 2,5 ml/kg. Corresponde a a pesada $1/\sqrt{x}$ . (n=8)

	Monocompartimental				Bicompartimental			
	Suma de cuadrados	Suma de cuadrados pesada	R <sup>2</sup>	AIC	Suma de Cuadrados	Suma de cuadrados pesada	R <sup>2</sup>	AIC
<b>Animal 1</b>	0.086	0.129	0,987	-18,531	0,039	0,034	0,994	-30,673
<b>Animal 2</b>	0.091	0.109	0,978	-20,583	0,011	0,019	0,997	-37,536
<b>Animal 3</b>	0.195	0.183	0,943	-14,373	0,118	0,104	0,966	-17,123
<b>Animal 4</b>	0.010	0.018	0,995	-38,410	0,002	0,003	0,999	-53,650
<b>Animal 5</b>	0.084	0.113	0,986	-20,139	0,015	0,017	0,997	-38,629
<b>Animal 6</b>	0.027	0.033	0,994	-28,070	0,027	0,031	0,994	-28,306
<b>Animal 7</b>	0.303	0.283	0,978	-9,153	0,012	0,009	0,999	-47,109
<b>Animal 8</b>	0.452	0.436	0,971	-4,803	0,059	0,041	0,996	-31,517
<b>Media</b>	<b>0.156</b>	<b>0.163</b>	<b>0.979</b>	<b>-19.258</b>	<b>0.035</b>	<b>0.032</b>	<b>0.0993</b>	<b>-35.568</b>
<b>DE</b>	0.153	0.138	0.017	10.572	0.038	0.032	0.011	11.381

#### **V.3.3.2.1. Cálculo de parámetros farmacocinéticos**

Los parámetros farmacocinéticos, calculados con ADAPT II, correspondientes a un modelo bicompartimental no lineal, luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2,5 mg/ml, se muestran en la Tabla 42. Los datos discriminados para cada animal se pueden ver en la Tabla XLIII del anexo

El cálculo de la biodisponibilidad se realizó tomando como referencia las áreas bajo la curva luego de las administración intravenosa e intramuscular respectivamente, calculadas ambas por el método trapezoidal. La biodisponibilidad luego de la administración intramuscular fue del 81 % cuando se compararon los ABCt y 83 % cuando se lo hizo entre las ABCinf. (Tabla XLIV del anexo).

Tabla 42. Parámetros farmacocinéticos bicompartimentales no lineales (ADAPT II) en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intramuscular (n = 8)

Parámetro	unidad	MEDIA	DE
A	µg/ml	<b>2.36</b>	1.22
B	µg/ml	<b>0.85</b>	0.38
$\alpha$	h-1	<b>1.07</b>	0.52
$\beta$	h-1	<b>0.21</b>	0.10
$K_{abs}$		<b>5.41</b>	2.23
$t_{1/2\alpha}$	h	<b>0.74 (0.65*)</b>	0.23
$t_{1/2\beta}$	h	<b>4.20 (3.38*)</b>	2.05
$K_{12}$	h-1	<b>0.32</b>	0.20
$K_{21}$	h-1	<b>0.51</b>	0.35
$K_{12} / K_{21}$		<b>0.72</b>	0.35
$K_{10}$	h-1	<b>0.45</b>	0.13
$V_c$	L/kg	<b>0.88</b>	0.28
$V_p$	L/kg	<b>0.59</b>	0.29
$V_{d_{ss}}$	L/kg	<b>1.46</b>	0.42
Cl	ml/h·kg	<b>0.41</b>	0.21
F		<b>0.83</b>	

A y B: intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición;  $\alpha$  y  $\beta$  constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación;  $t_{1/2\alpha}$ , vida media de distribución,  $t_{1/2\beta}$ , vida media de eliminación;  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ , constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y el compartimiento periférico;  $k_{10}$ , constante de eliminación del compartimiento central;  $V_c$ , volumen aparente del compartimiento central; Cl, aclaramiento total;  $V_{d_{ss}}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario; y F es la biodisponibilidad luego de la administración intramuscular. (\*) media armónica

#### **V.4. Cinética plasmática de la enrofloxacin administrada por via subcutánea**

##### **V.4.1. Curvas de niveles plasmáticos**

Tras la administración subcutánea de enrofloxacin se obtuvieron las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin que se muestran en la Tabla 43, 44 y 45. La representación de las mismas aparece en las Figuras 30, 31, 32, 33 y 34.

El metabolito ciprofloxacina representó el 46 % de la droga madre enrofloxacin cuando se compararon los promedios de las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas desde el tiempo cero hasta la última determinación para ambas drogas.

Tabla 43. Concentraciones plasmáticas ( $\mu\text{g/mL}$ ) de enrofloxacina vs. tiempo en ovinos luego de la administración subcutánea de enrofloxacina a una dosis de 2,5 mg/kg

Tiempo	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
0,25	1,03	1,22	1,05	1,26	1,01	1,56	1,61	1,86
0,5	1,49	1,72	1,50	1,98	1,89	2,08	2,31	2,43
1	1,71	1,60	2,00	1,50	1,53	1,90	1,83	2,05
1,5	1,61	1,22	1,34	1,16	1,18	1,28	1,51	1,62
2	1,07	0,95	0,94	0,87	0,78	1,02	1,14	1,30
3	0,58	0,49	0,55	0,52	0,57	0,63	0,81	1,06
4	0,37	0,31	0,37	0,40	0,36	0,44	0,57	0,71
5	0,26	0,22	0,25	0,31	0,16	0,29	0,46	0,54
6	0,21	0,14	0,12	0,24	0,13	0,35	0,33	0,35
8	0,12	0,10	0,10	0,19	0,10	0,15	0,22	0,20
10				0,16		0,13	0,15	0,15
12				0,12		0,10	0,11	0,11

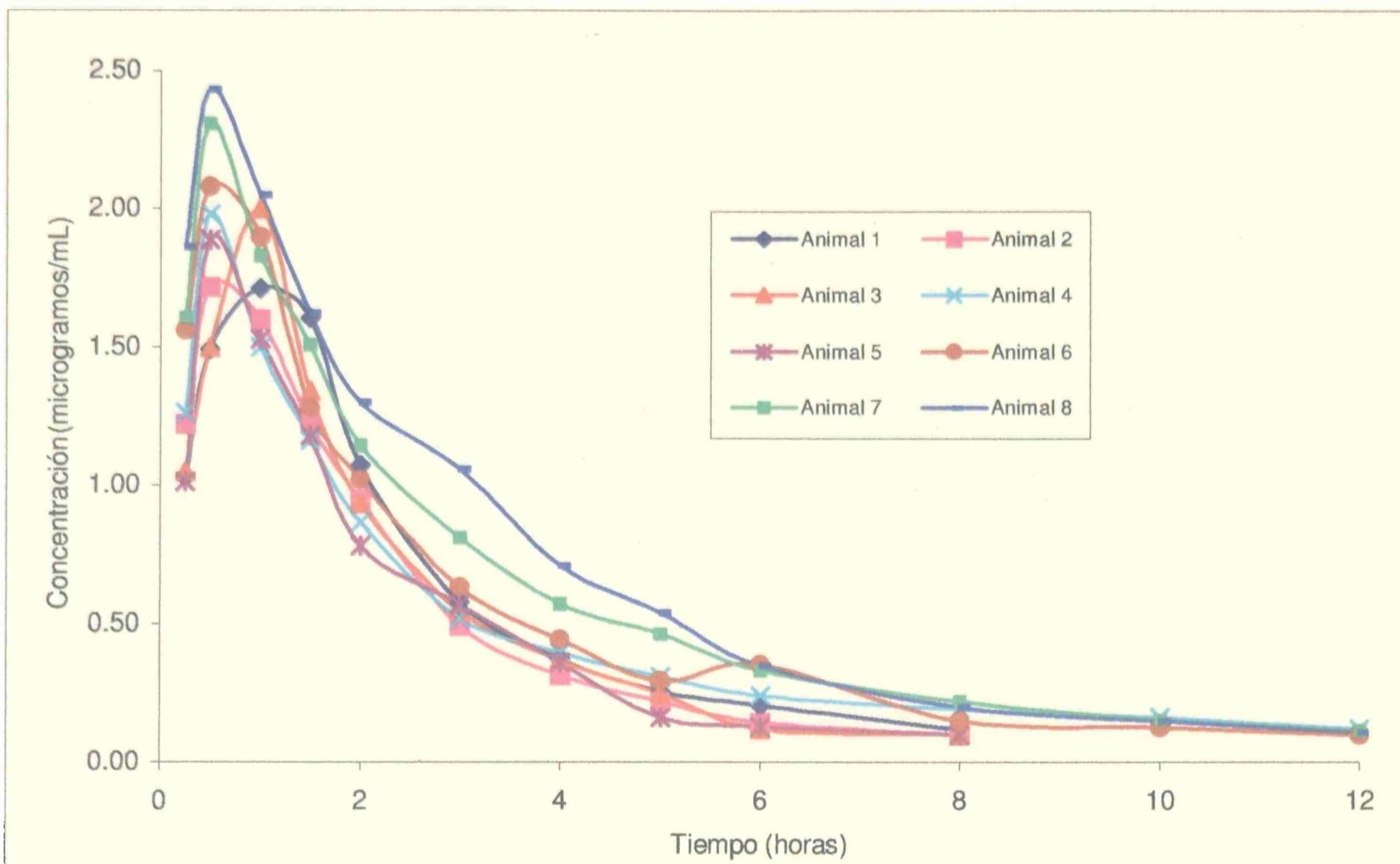


Figura 30. Curvas de los niveles plasmáticos de enrofloxacin de 8 animales ovinos luego de la administración subcutánea de 2,5 mg/kg de enrofloxacin

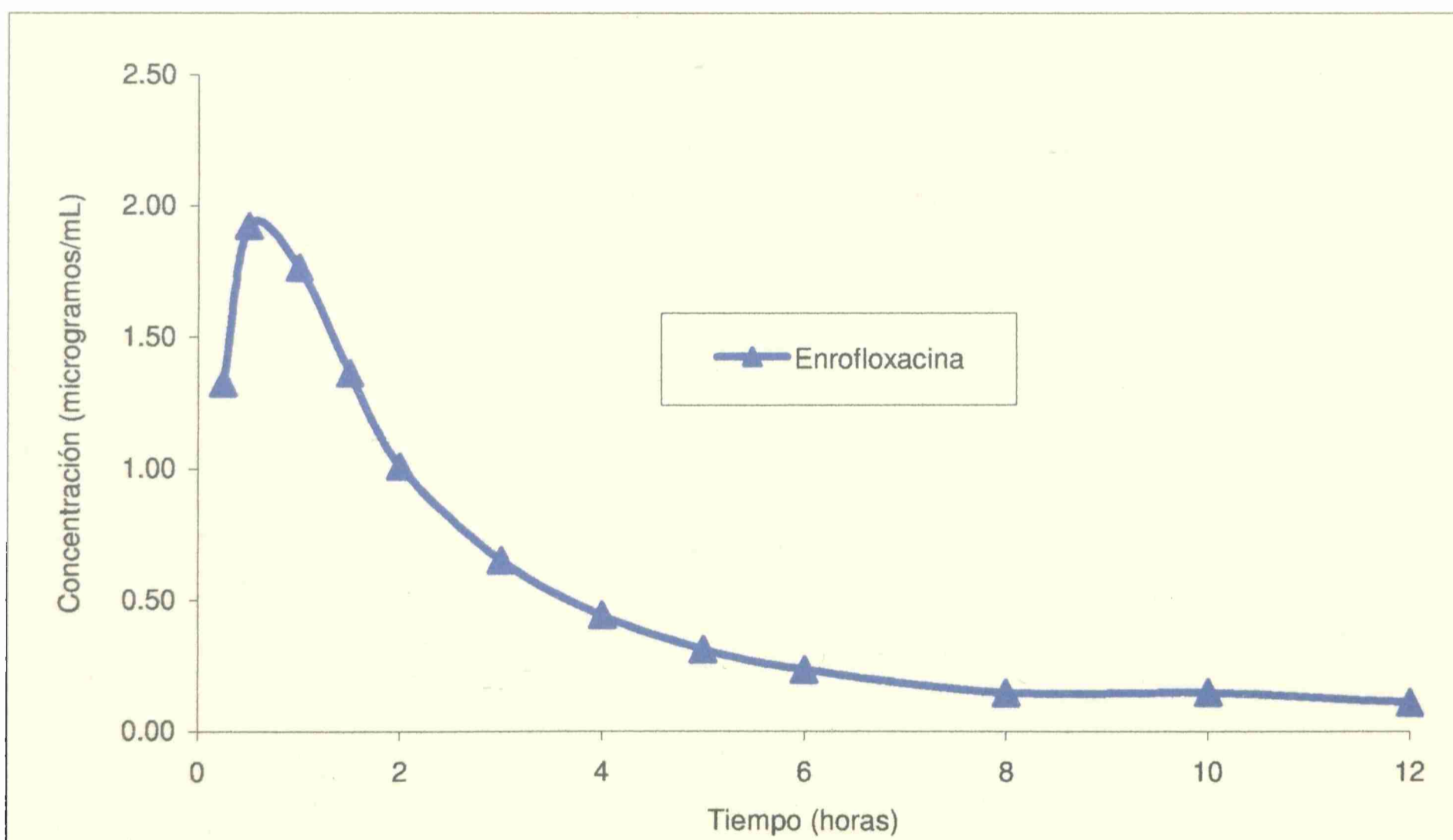


Figura 31. Curvas de la media aritmética de los niveles plasmáticos de enrofloxacin de 8 animales ovinos luego de la administración subcutánea de 2,5 mg/kg de enrofloxacin

Tabla 44. Concentraciones plasmáticas (µg/mL) de ciprofloxacina vs. tiempo en ovinos luego de la administración subcutánea de enrofloxacina a una dosis de 2,5 mg/kgf

Tiempo	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
0,25	0,10	0,11	0,14	0,12	0,10	0,12	0,10	0,12
0,5	0,12	0,16	0,17	0,14	0,13	0,17	0,12	0,19
1	0,16	0,24	0,19	0,21	0,16	0,22	0,16	0,21
1,5	0,18	0,21	0,22	0,16	0,19	0,21	0,18	0,19
2	0,19	0,20	0,20	0,16	0,17	0,19	0,23	0,17
3	0,16	0,20	0,17	0,15	0,16	0,17	0,17	0,15
4	0,15	0,18	0,12	0,14	0,15	0,14	0,14	0,14
5	0,14	0,15	0,12	0,13	0,14	0,13	0,13	0,13
6	0,11	0,12	0,10	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
8	0,10	0,10		0,11	0,10		0,10	0,11
10								

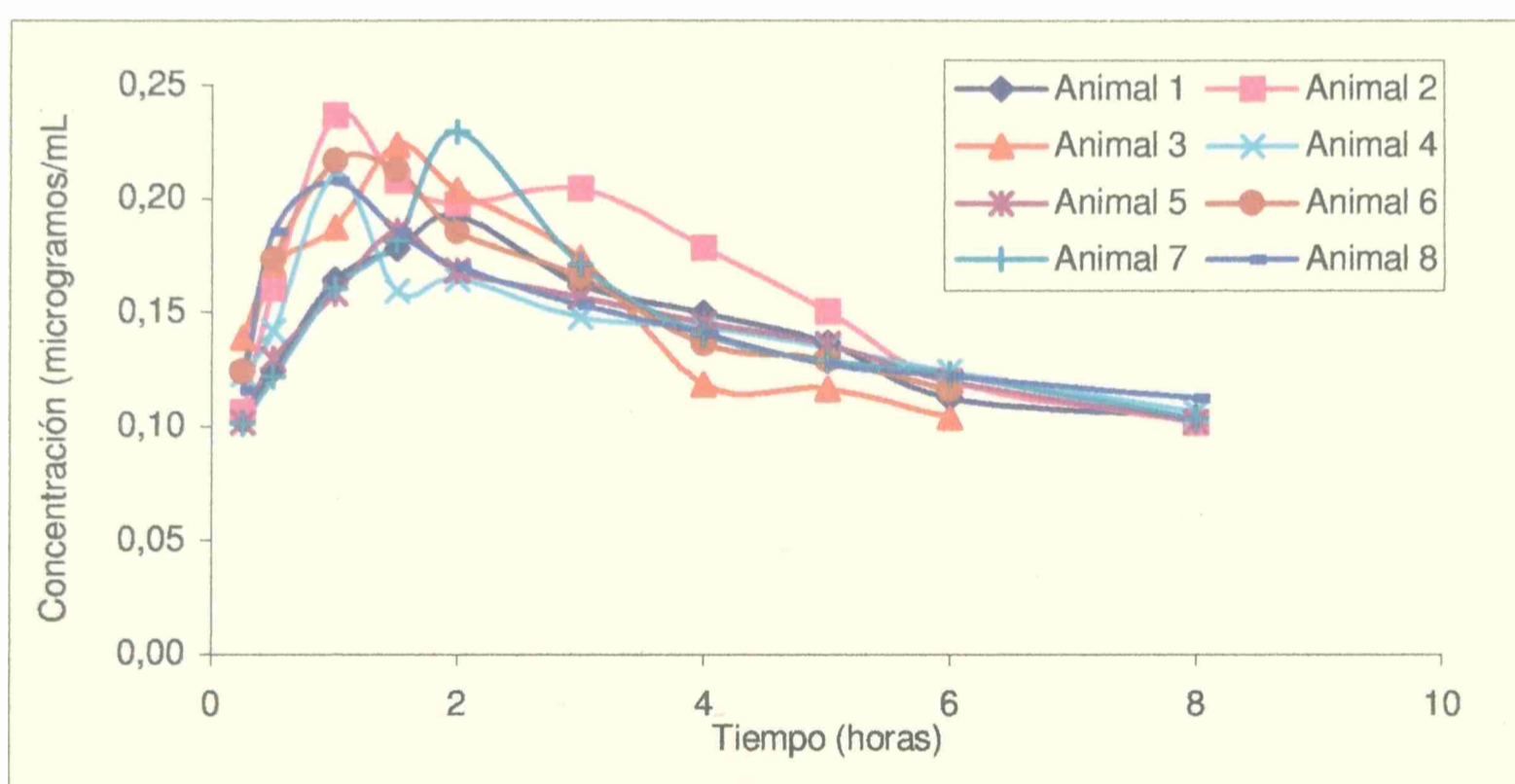


Figura 32. Curvas de los niveles plasmáticos de ciprofloxacina de 8 animales ovinos luego de la administración subcutánea de 2,5 mg/kg de enrofloxacina

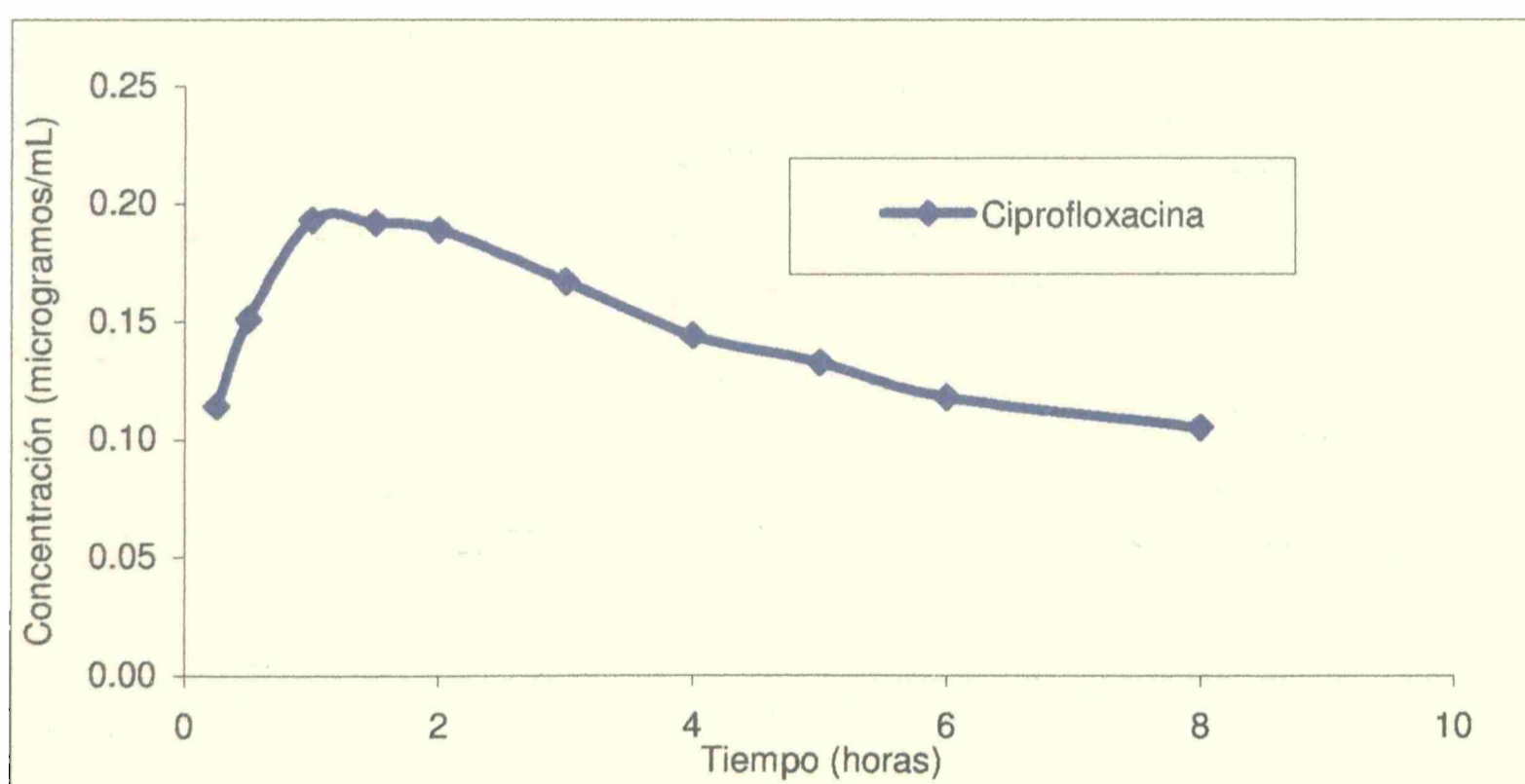


Figura 33. Curvas de la media aritmética de los niveles plasmáticos de ciprofloxacina de 8 animales ovinos luego de la administración subcutánea de 2,5 mg/kg de enrofloxacina

Tabla 45. Promedios de las concentraciones plasmáticas ( $\mu\text{g/mL}$ ) de enrofloxacin y ciprofloxacina vs. tiempo en ovinos luego de la administración subcutánea de enrofloxacin a una dosis de 2,5 mg/mL

Tiempo (horas)	Enrofloxacin ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ciprofloxacina ( $\mu\text{g/mL}$ )	Enrofloxacin + Ciprofloxacina ( $\mu\text{g/mL}$ )
0,25	1,33	0,11	1,44
0,5	1,93	0,15	2,08
1	1,77	0,19	1,96
1,5	1,36	0,19	1,56
2	1,01	0,19	1,20
3	0,65	0,17	0,82
4	0,44	0,14	0,59
5	0,31	0,13	0,44
6	0,23	0,12	0,35
8	0,13	0,11	0,24

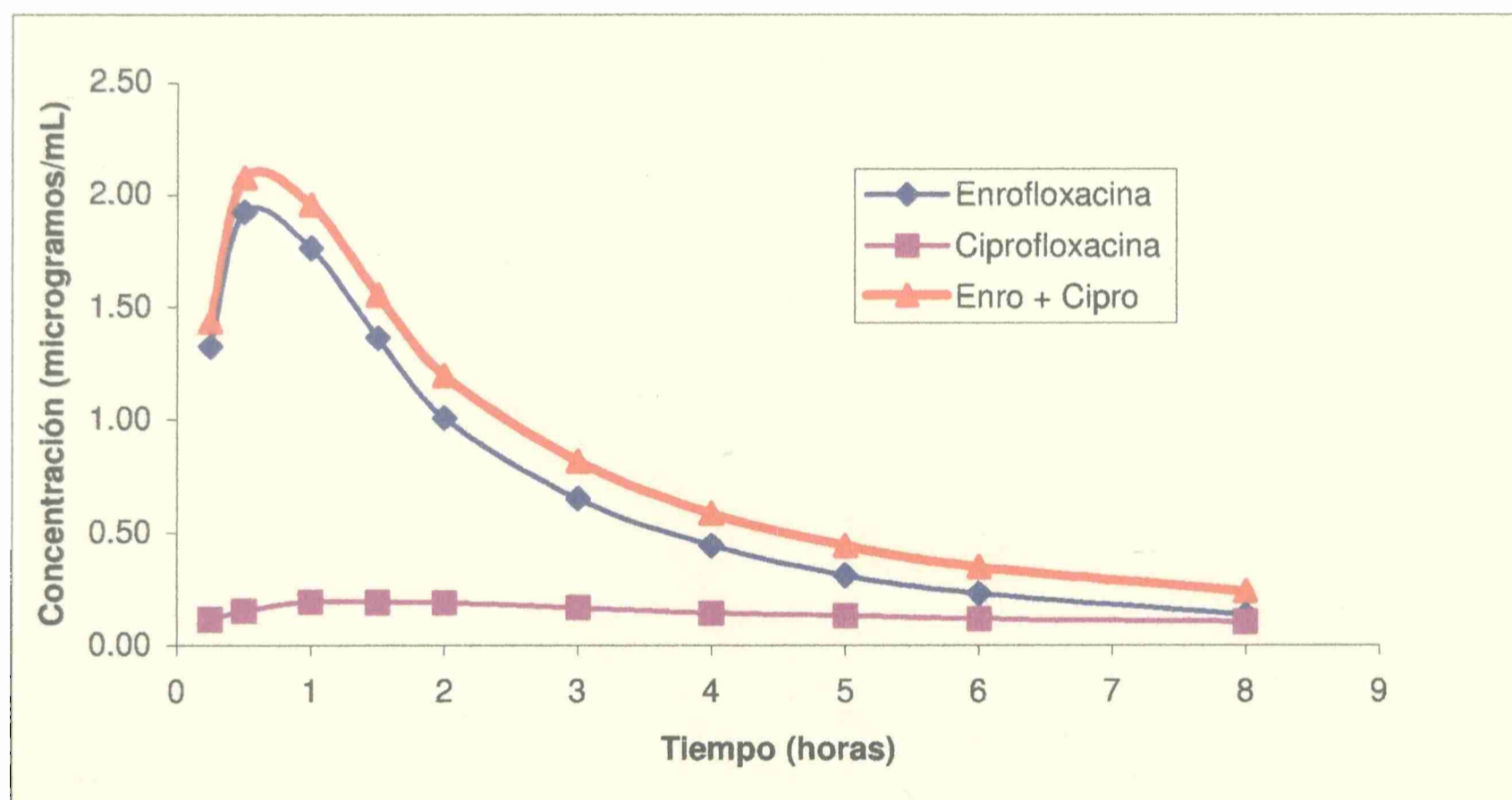


Figura 34. Curvas de la media aritmética de los niveles plasmáticos de enrofloxacin, ciprofloxacina, y enrofloxacin más ciprofloxacina de 8 animales ovinos luego de la administración subcutánea de 2,5 mg/kg de enrofloxacin.



## **V.4.2 Farmacocinética no compartimental**

### **V.4.2.1. Cálculo de parámetros farmacocinéticos con el programa PKCALC**

En la Tabla 46 se describen los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacin y ciprofloxacina, calculados con el programa PKCALC, correspondientes a una administración subcutánea de 2.5 mg/kg de enrofloxacin. Los valores obtenidos para cada animal se muestran en la tabla XLV del anexo.

### **V.4.2.2. Cálculo de parámetros farmacocinéticos mediante la utilización de fórmulas clásicas**

En las Tablas 47 y 48 se describen los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacin y ciprofloxacina, calculados con ecuaciones, correspondientes a una administración subcutánea de 2.5 mg/kg de enrofloxacin. Los valores obtenidos para cada animal se muestran en la tabla XLVI y XLVII del anexo. Las ecuaciones utilizadas se muestran en la tabla I del anexo.

Tabla 46. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía subcutánea (calculados con PKCALC)

Parámetros	unidad	Media	DE
TMR	h	<b>2.15</b>	0.52
$T_{1/2\beta}$	h	<b>1.95</b>	0.29
$\beta$	$h^{-1}$	<b>1.35</b>	0.20
$ABC_{(0-t)}$	$\mu g \cdot h/ml$	<b>5.04</b>	1.08
$ABC_{(0-\infty)}$	$\mu g \cdot h/ml$	<b>5.40</b>	1.27
$ABCM_{(0-t)}$	$\mu g \cdot h \cdot h/ml$	<b>11.89</b>	3.83
$ABCM_{(0-\infty)}$	$\mu g \cdot h \cdot h/ml$	<b>15.86</b>	6.14
Cl	L/h/kg	<b>0.39</b>	0.08
$V_{ss}$	L/kg	<b>0.87</b>	0.39

TMR: tiempo máximo de residencia;  $t_{1/2\beta}$ : vida media de eliminación,  $\beta$ : constante híbrida de eliminación;  $ABC_{(0-t)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t;  $ABC_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito;  $ABCM_{(0-t)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo t;  $ABCM_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; Cl<sub>total</sub>: aclaramiento total;  $V_{ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario.

Tabla 47. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía subcutánea (calculados mediante ecuaciones)

Parámetros	unidad	Media	DE
$C_{max}$	$\mu g/mL$	<b>2.02</b>	0.26
$T_{max}$	h	<b>0.63</b>	0.23
TMR	h	<b>3.30</b>	0.85
$T_{1/2\beta}$	h	<b>2.19</b>	0.48
Constante de tasa de eliminación	$h^{-1}$	<b>0.33</b>	0.08
$ABC_{(0-t)}$	$\mu g \cdot h/ml$	<b>5.41</b>	1.25
$ABC_{(0-\infty)}$	$\mu g \cdot h/ml$	<b>5.75</b>	1.32
$ABCM_{(0-t)}$	$\mu g \cdot h \cdot h/ml$	<b>15.28</b>	6.05
$ABCM_{(0-\infty)}$	$\mu g \cdot h \cdot h/ml$	<b>20.05</b>	8.07
Cl	L/h/kg	<b>0.45</b>	0.10
$V_{ss}$	L/kg	<b>1.48</b>	0.22

TMR: tiempo máximo de residencia;  $t_{1/2\beta}$ : vida media de eliminación,  $\beta$ : constante híbrida de eliminación;  $ABC_{(0-t)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t;  $ABC_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito;  $ABCM_{(0-t)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo t;  $ABCM_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; Cl<sub>total</sub>: aclaramiento total;  $V_{ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario.

Tabla 48. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ciprofloxacina en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía subcutánea (calculados mediante ecuaciones)

Parámetros	unidad	Media	DE
$C_{max}$	$\mu\text{g/mL}$	<b>0.21</b>	0.03
$T_{max}$	h	<b>0.88</b>	0.44
TMR	h	<b>16.61</b>	5.96
$T_{1/2\beta}$	h	<b>11.92</b>	4.34
Constante de tasa de eliminación	$\text{h}^{-1}$	<b>0.07</b>	0.03
$ABC_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$	<b>0.84</b>	0.07
$ABC_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$	<b>2.66</b>	0.64
$ABCM_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{h/ml}$	<b>2.25</b>	0.35
$ABCM_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{h/ml}$	<b>47.47</b>	26.53

TMR: tiempo máximo de residencia;  $t_{1/2\beta}$ : vida media de eliminación,  $\beta$ : constante híbrida de eliminación;  $ABC_{(0-t)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t;  $ABC_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito;  $ABCM_{(0-t)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo t;  $ABCM_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito.

### V.4.3. Farmacocinética compartimental

#### V.4.3.1. Ajuste por regresión lineal

Los datos de concentración plasmática frente a tiempo de enrofloxacin obtenidos para cada uno de los animales ovinos, luego de la administración subcutánea de 2,5 mg/kg de enrofloxacin, fueron introducidos en el programa de regresión lineal CSTRIP, obteniendo un ajuste a dos y tres términos exponenciales. La discriminación entre los dos modelos se realizó por el método de mínimos cuadrados, el coeficiente de regresión de Pearson y, cuando cuando estos métodos no mostraron diferencia aparentemente significativa entre algunos de los modelos, se utilizó la razón de F.

La sumatoria de cuadrados de las desviaciones entre las concentraciones observadas y estimadas, los coeficientes de regresión, los valores de F y el test de MAICE, muestran claramente que el modelo que mejor ajusta a los datos, para todos los animales, es el bicompartimental abierto con eliminación de primer orden desde el compartimiento central (tablas 49, 50, 51 y 52; y tablas XLVIII y XLIX del anexo).

Las concentraciones obtenidas se ajustaron para su análisis a un modelo abierto de dos compartimentos, empleando la ecuación:

$$C_p = A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t} - P \cdot e^{-k_a t}$$

Donde:

$C_p$  es la concentración de la droga a cualquier tiempo;

$P$ ,  $A$  y  $B$  son las intercepciones al origen (eje Y) de las tres fases de la curva correspondientes a la absorción, la distribución y la eliminación respectivamente, con dimensiones expresadas en  $\mu\text{g/ml}$ ;

$k_a$ ,  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes de absorción, de distribución y de eliminación respectivamente, con dimensiones expresadas en  $\text{min}^{-1}$ ;

$e$  es la base del logaritmo natural; y  $t$  es el tiempo

Tabla 49. Sumatoria de los cuadrados de las desviaciones de los datos estimados con respecto a los datos experimentales para 2 y 3 exponentes, calculados por análisis de regresión lineal con el programa CSTRIP

	<b>SC biexponencial</b>	<b>SC triexponencial</b>
Animal 1	0.2157	0.1248
Animal 2	4.0162	0.0070
Animal 3	0.9233	0.2463
Animal 4	7.5073	0.0030
Animal 5	1.0742	0.0207
Animal 6	9.0066	0.0328
Animal 7	5.5526	0.0057
Animal 8	4.2697	0.0205
<b>media</b>	<b>4.0707</b>	<b>0.0576</b>

Tabla 50. Coeficientes de regresión ( $r^2$ ) para 2 y 3 exponentes, calculados por análisis de regresión lineal con el programa CSTRIP

	<b>CR biexponencial</b>	<b>CR triexponencial</b>
Animal 1	0.9366	0.9633
Animal 2	-0.1608	0.9980
Animal 3	0.9411	0.9365
Animal 4	-0.7880	0.9993
Animal 5	0.7020	0.9943
Animal 6	-0.5862	0.9942
Animal 7	0.0844	0.9991
Animal 8	0.4091	0.9972
<b>media</b>	<b>0.1923</b>	<b>0.9852</b>

Tabla 51. Razon de F para discriminar mejor ajuste entre 2 y 3 exponentes

	<b>Razón F</b>	<b>P</b>
Animal 1	9.47	1,19E-04
Animal 2	7412	5,48E-23
Animal 3	35.72	4,68E-08
Animal 4	32464	3,72E-27
Animal 5	662	3,56E-16
Animal 6	3560	6,44E-21
Animal 7	12340	1,62E-24
Animal 8	2699	3,89E-20
<b>media</b>	<b>7448</b>	<b>1,48E-05</b>

Tabla 52: Discriminación de modelos farmacocinéticos por el criterio de información de Akaike (AIC) , para el ajuste de los datos de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin vs. tiempo, luego de la administración subcutánea de enrofloxacin a ovinos, a una dosis de 2,5 ml/kg.

<b>Animal 1</b>	-14,41	-18,97
<b>Animal 2</b>	20,68	-53,54
<b>Animal 3</b>	3,04	-10,81
<b>Animal 4</b>	28,19	-63,71
<b>Animal 5</b>	4,86	-40,53
<b>Animal 6</b>	30,38	-35,01
<b>Animal 7</b>	24,57	-56,01
<b>Animal 8</b>	21,42	-40,65
<b>Promedio</b>	<b>14,8418</b>	<b>-39,9042</b>

**V.4.3.1.1. Cálculo de parámetros farmacocinéticos**

Para los cálculos de los parámetros farmacocinéticos basados en regresión lineal se utilizaron los datos surgidos del programa CSTRIP (intercepciones, por extrapolación, de las regresiones de cada una de las fases de la curva concentración plasmática-tiempo al tiempo cero A, B y P y constantes híbridas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$ ) y las ecuaciones de Gibaldi (1982), Baggot (1986), y Berrozpe-Plá Delfina (1997) para dos compartimientos (Tabla I del anexo). Los parámetros farmacocinéticos correspondientes a un modelo bicompartimental abierto luego de la administración subcutánea de enrofloxacin a una dosis de 2,5 mg/ml se muestran en la Tabla 53. Los datos correspondientes a cada animal se muestran en la Tabla L del anexo

Tabla 53. Parámetros farmacocinéticos compartimentales obtenidos con CSTRIP y ecuaciones en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía subcutánea (n = 8)

Parámetro	unidad	MEDIA	DE
A	µg/ml	<b>2.42</b>	1.50
P	µg/ml	<b>-3.40</b>	1.19
B	µg/ml	<b>1.22</b>	0.64
$\alpha$	h-1	<b>0.89</b>	0.25
$K_{abs}$	h-1	<b>6.18</b>	3.78
$\beta$	h-1	<b>0.28</b>	0.13
$t_{1/2\alpha}$	h	<b>0.83</b>	0.21
$t_{1/2\beta}$	h	<b>3.11</b>	1.58
$K_{12}$	h-1	<b>0.18</b>	0.13
$K_{21}$	h-1	<b>0.48</b>	0.22
$K_{12} / K_{21}$		<b>0.50</b>	0.44
$K_{10}$	h-1	<b>0.50</b>	0.15
$V_c$	L/kg	<b>0.75</b>	0.22
$V_p$	L/kg	<b>0.38</b>	0.40
$V_{d_{ss}}$	L/kg	<b>1.13</b>	0.50
$V_{d_{\text{área}}}$	L/kg	<b>1.57</b>	0.82
Cl	ml/h·kg	<b>0.36</b>	0.08

A, B y P: intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición;  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$ : constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación;  $t_{1/2\alpha}$ , vida media de distribución rápida inicial,  $t_{1/2\pi}$  vida media de distribución lenta,  $t_{1/2\beta}$ , vida media de eliminación;  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{31}$ ,  $k_{13}$ , constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y los compartimientos periféricos;  $k_{10}$ , constante de eliminación del compartimiento central;  $V_c$ , volumen aparente del compartimiento central;  $V_p$ , volumen periférico; Cl<sub>total</sub>: aclaramiento total; Cl<sub>2</sub>, aclaramiento del compartimiento periférico superficial; Cl<sub>3</sub>, aclaramiento del compartimiento periférico profundo;  $V_{ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario.



#### V.4.3.2. Ajuste por regresión no lineal

Los datos de concentración plasmática frente a tiempo de enrofloxacin obtenidos para cada uno de los animales ovinos, luego de la administración subcutánea de 2,5 mg/kg de enrofloxacin, fueron introducidos en el programa de regresión no lineal ADAPT II (D'argenio, D.Z. & Schumitzky, A. 1997), obteniendo un ajuste a dos y tres términos exponenciales. La discriminación entre modelos, realizada por el métodos de mínimos cuadrados, el coeficiente de regresión de Pearson, y el criterio de información de Akaike (AIC) y su adaptación para discriminación de modelos hecha por Yamaoka y col. (1978a), mostró que el modelo abierto de dos compartimientos con absorción de primer orden desde el compartimiento central es el que mejor ajusta a los datos (Tabla 54 y Tabla LI y LII del anexo). La mejor pesada, establecida a partir a la suma de cuadrados de los residuales obtenidos entre las concentraciones experimentales y teóricas, y del análisis de la dispersión y de la distribución aleatoria de esos residuales alrededor de la abcisa, fue  $1/\sqrt{x}$  (Tabla LIII y figura V del anexo). Por lo tanto, las concentraciones obtenidas se ajustaron para su análisis a un modelo abierto de dos compartimientos, empleando la ecuación:

$$C_p = A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t} + P \cdot e^{-\frac{k}{a} t}$$

Donde:

$C_p$  es la concentración de la droga a cualquier tiempo;

$P$ ,  $A$  y  $B$  intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición, con dimensiones expresadas en  $\mu\text{g/ml}$ ;

$\pi$ ,  $\alpha$  y  $\beta$  son constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación, con dimesiones expresadas en  $\text{min}^{-1}$ ;

$e$  es la base del logaritmo natural; y

$t$  es el tiempo

Tabla 54. Discriminación de modelos farmacocinéticos por el métodos de mínimos cuadrados, el coeficiente de regresión de Pearson, y el criterio de información de Akaike (AIC) , para el ajuste de los datos de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin vs. tiempo, luego de la administración subcutánea de esta droga a ovinos, a una dosis de 2,5 ml/kg. Corresponde a la pesada  $1/\sqrt{x}$ . (n=8)

	Monocompartimental				Bicompartimental			
	Suma de cuadrados	Suma de cuadrados pesada	R <sup>2</sup>	AIC	Suma de Cuadrados	Suma de cuadrados pesada	R <sup>2</sup>	AIC
<b>Animal 1</b>	0,064	0,080	0,982	-19,323	0,029	0,027	0,991	-26,202
<b>Animal 2</b>	0,020	0,032	0,994	-28,480	0,005	0,005	0,999	-43,253
<b>Animal 3</b>	0,152	0,128	0,961	-14,572	0,120	0,099	0,970	-13,159
<b>Animal 4</b>	0,197	0,237	0,956	-11,259	0,062	0,049	0,985	-26,151
<b>Animal 5</b>	0,156	0,139	0,957	-13,744	0,128	0,117	0,965	-11,475
<b>Animal 6</b>	0,128	0,155	0,976	-14,476	0,021	0,028	0,996	-32,698
<b>Animal 7</b>	0,144	0,141	0,977	-17,507	0,043	0,033	0,993	-30,952
<b>Animal 8</b>	0,061	0,056	0,992	-28,489	0,025	0,028	0,997	-32,853
<b>Media</b>	<b>0.115</b>	<b>0.121</b>	<b>0.974</b>	<b>-18.481</b>	<b>0.054</b>	<b>0.048</b>	<b>0.987</b>	<b>-27.093</b>
<b>DE</b>	0.060	0.065	0.015	6.630	0.046	0.039	0.013	10.559

#### **V.4.3.2.1. Cálculo de parámetros farmacocinéticos**

Los parámetros farmacocinéticos, calculados con ADAPT II, correspondientes a un modelo bicompartimental no lineal, luego de la administración subcutánea de enrofloxacin a una dosis de 2,5 mg/ml, se muestran en la Tabla 55. Los datos discriminados para cada animal se pueden ver en la Tabla LIV del anexo.

El cálculo de la biodisponibilidad se realizó tomando como referencia las áreas bajo la curva luego de las administración intravenosa y subcutánea, respectivamente, calculadas ambas por el método trapezoidal. La biodisponibilidad luego de la administración subcutánea fue del 64 % cuando se compararon los ABCt y 61 % cuando se lo hizo entre las ABCinf. (Tabla LV del anexo).

Tabla 55. Parámetros farmacocinéticos bicompartmentales no lineales (ADAPT II) en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía subcutánea (n = 8)

Parámetro	unidad	MEDIA	DE
A	µg/ml	<b>3.14</b>	0.60
B	µg/ml	<b>0.93</b>	0.58
α	h <sup>-1</sup>	<b>1.58</b>	0.52
β	h <sup>-1</sup>	<b>0.24</b>	0.10
K <sub>abs</sub>	min <sup>-1</sup>	<b>2.12</b>	0.57
t <sub>1/2α</sub>	h	<b>0.48 (0.44*)</b>	0.15
t <sub>1/2β</sub>	h	<b>3.40 (2.86*)</b>	1.55
K <sub>12</sub>	h <sup>-1</sup>	<b>0.55</b>	0.27
K <sub>21</sub>	h <sup>-1</sup>	<b>0.58</b>	0.36
K <sub>12</sub> / K <sub>21</sub>		<b>1.12</b>	0.60
K <sub>10</sub>	h <sup>-1</sup>	<b>0.69</b>	0.14
V <sub>c</sub>	L/kg	<b>0.63</b>	0.11
V <sub>p</sub>	L/kg	<b>0.70</b>	0.36
V <sub>d<sub>ss</sub></sub>	L/kg	<b>1.32</b>	0.38
Cl	ml/h·kg	<b>0.43</b>	0.10
F		<b>0.61</b>	

A y B: intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición; α y β constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación; t<sub>1/2α</sub>, vida media de distribución, t<sub>1/2β</sub>, vida media de eliminación; k<sub>21</sub>, k<sub>12</sub>, constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y el compartimiento periférico; k<sub>10</sub>, constante de eliminación del compartimiento central; V<sub>c</sub>, volumen aparente del compartimiento central; V<sub>p</sub>, volumen aparente del compartimiento periférico; V<sub>d<sub>ss</sub></sub>, volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario; Cl: aclaramiento total; y F es la biodisponibilidad luego de la administración subcutánea. (\*) Media armónica

## **V.5.Cinética plasmática de la enrofloxacin administrada por via oral**

### **V.5.1. Curva de niveles plasmáticos**

Tras la administración oral de enrofloxacin se obtuvieron las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin que se muestran en la tabla 56. La representación de las mismas aparece en las Figuras 35 y 36

Tabla 56. Concentraciones plasmáticas ( $\mu\text{g/mL}$ ) de enrofloxacin a una dosis de 2,5 mg/kg de enrofloxacin vs. tiempo en ovinos luego de la administración oral de

Tiempo	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
0,25	0,10	0,12	0,11	0,12	0,13	0,14	0,15	0,12
0,5	0,11	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,17	0,14
1	0,13	0,13	0,16	0,17	0,13	0,14	0,16	0,14
1,5	0,15	0,14	0,19	0,22	0,14	0,17	0,16	0,14
2	0,15	0,15	0,18	0,26	0,18	0,16	0,19	0,19
3	0,16	0,14	0,18	0,24	0,17	0,16	0,15	0,17
4	0,14	0,13	0,18	0,24	0,18	0,09	0,17	0,17
5	0,15	0,14	0,18	0,18	0,15	0,11	0,17	0,18
6	0,15	0,13	0,18	0,18	0,14	0,11	0,16	0,17
8	0,13	0,11	0,14	0,15	0,14	0,10	0,13	0,17
10	0,13	0,11	0,14	0,16	0,13	0,09	0,14	0,15
12	0,14	0,11	0,13	0,14	0,13	0,09	0,11	0,12

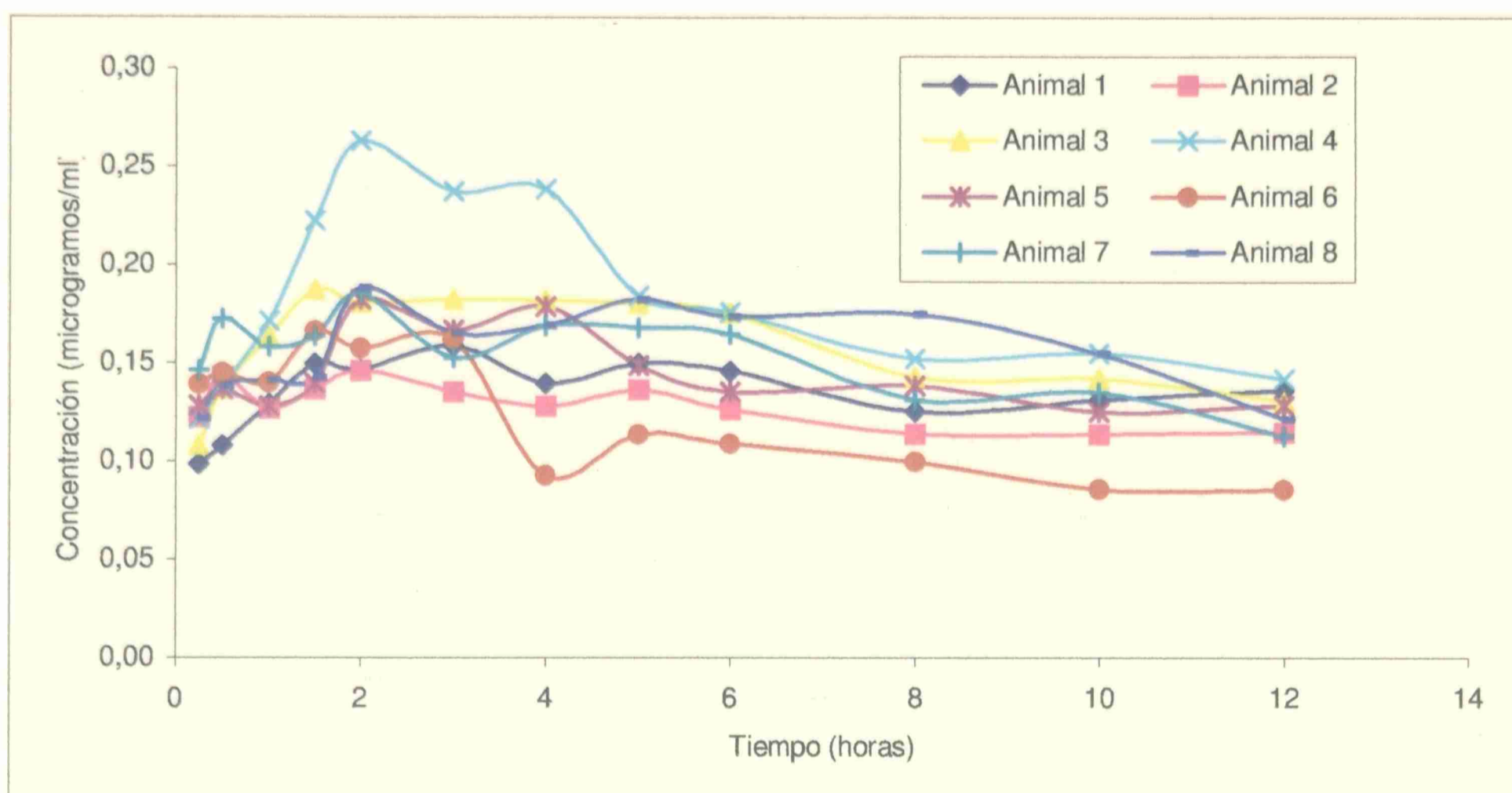


Figura 35. Curvas de los niveles plasmáticos de enrofloxacin de 8 animales ovinos luego de la administración oral de 2,5 mg/kg de enrofloxacin

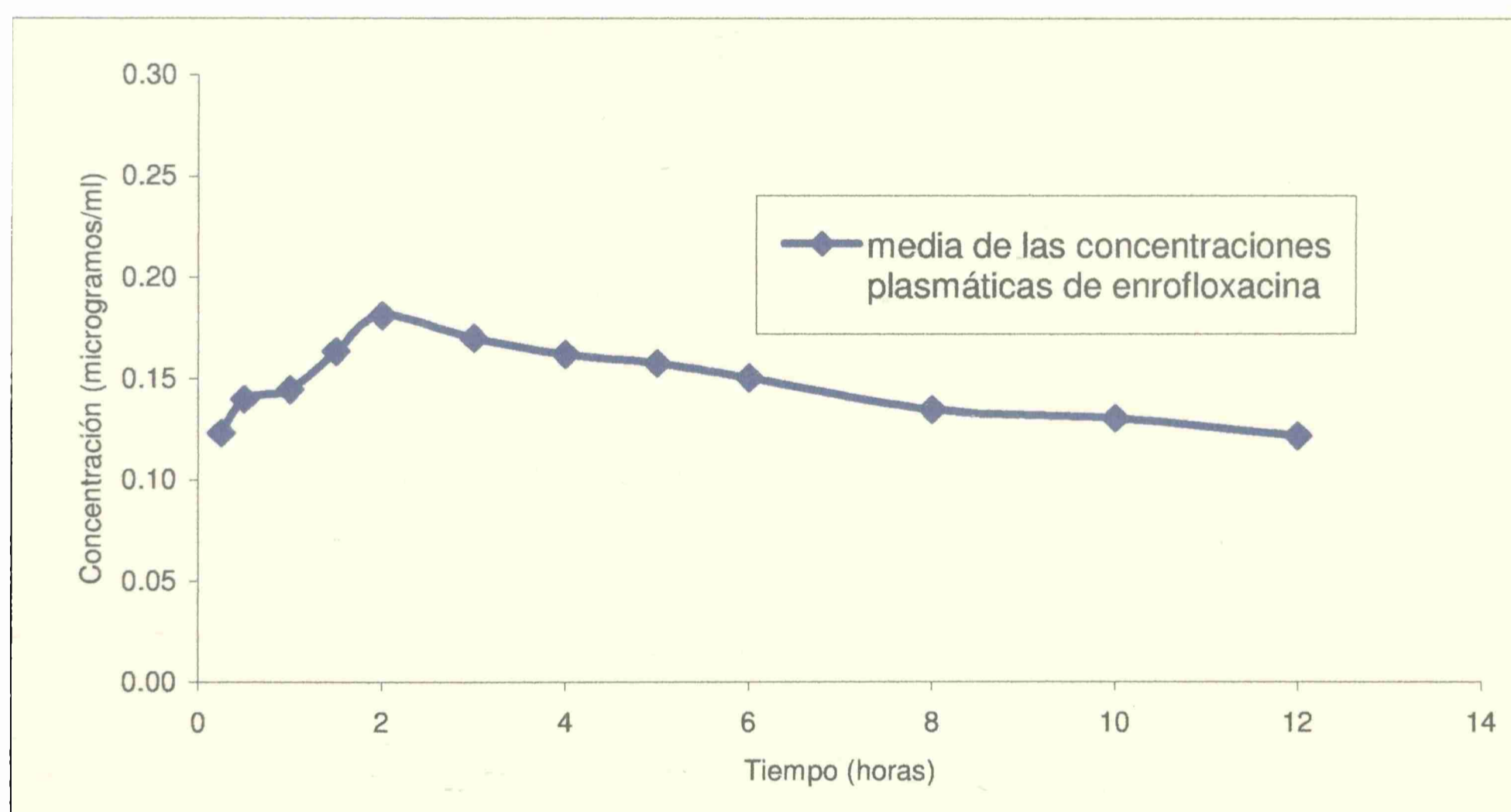


Figura 36. Curvas de la media aritmética de los niveles plasmáticos de enrofloxacin de 8 animales ovinos luego de la administración oral de 2,5 mg/kg de enrofloxacin

## V.6. Cinética de enrofloxacin en tejidos

Las concentraciones de enrofloxacin y de ciprofloxacina en músculo, sitio de inyección, hígado y riñón, luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg, se muestran en las tablas 56 a 67 y en las figuras 37 a 48.

Las concentraciones máximas de enrofloxacin en músculo, sitio de inyección, hígado y riñón fueron 0.45, 31.93, 1.15 y 0.75 µg/ml, respectivamente. Los valores correspondientes a ciprofloxacina para los mismos tejidos fueron 0.22, 2.68, 0.05 y 0.392, respectivamente. Las concentraciones máximas en todos los tejidos se alcanzaron a las 6 horas.



Tabla 56. Concentraciones de enrofloxacin en músculos de ovejas luego de la administración intramuscular a una dosis de 2.5 mg/kg

Animales	Horas	Concentr.	Media
1	6	0.54	
1	6	0.45	<b>0.45</b>
2	6	0,40	
2	6	0.42	
3	12	0,05	
3	12	0.05	<b>0.05</b>
4	12	0,05	
4	12	0.06	
5	24	<b>ND</b>	
5	24	<b>ND</b>	<b>ND</b>
6	24	<b>ND</b>	
6	24	<b>ND</b>	
7	48	<b>ND</b>	
7	48	<b>ND</b>	<b>ND</b>
8	48	<b>ND</b>	
8	48	<b>ND</b>	

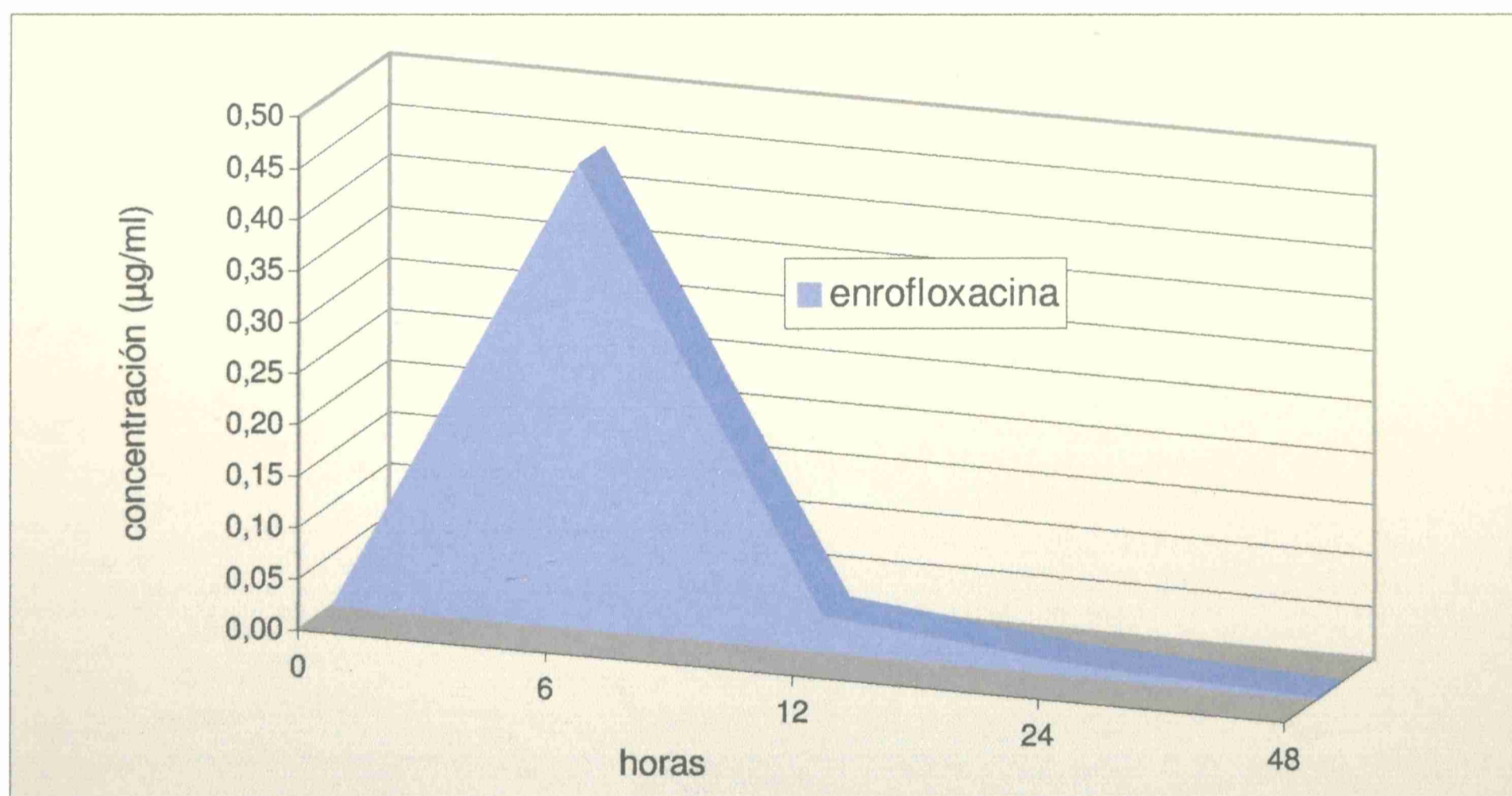


Figura 37. Concentraciones de enrofloxacin en músculos de ovejas luego de la administración intramuscular a una dosis de 2.5 mg/kg

Tabla 57. Concentraciones de ciprofloxacina en músculos de ovejas luego de la administración intramuscular a una dosis de 2.5 mg/kg

Animales	Horas	Concentr.	Media
1	6	0.20	
1	6	0.22	<b>0.22</b>
2	6	0.24	
2	6	0.20	
3	12	0.07	
3	12	0.05	<b>0.08</b>
4	12	0.11	
4	12	0.09	
5	24	ND	
5	24	ND	<b>ND</b>
6	24	ND	
6	24	ND	
7	48	ND	
7	48	ND	<b>ND</b>
8	48	ND	
8	48	ND	

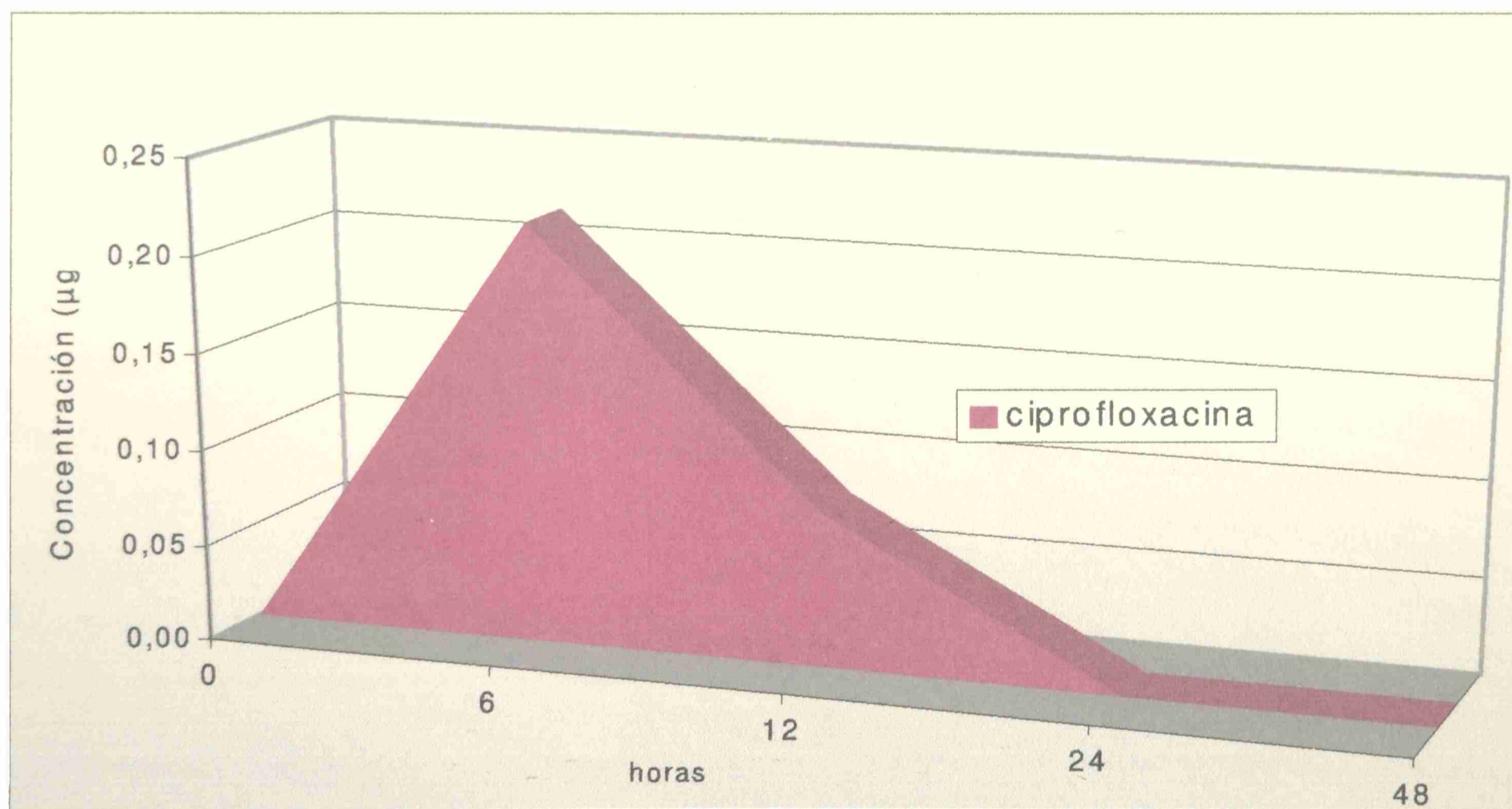


Figura 38. Concentraciones de ciprofloxacina en músculos de ovejas luego de la administración intramuscular a una dosis de 2.5 mg/kg

Tabla 58. Concentraciones de enrofloxacin más ciprofloxacina en músculo de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Horas	Enrofloxacin	Ciprofloxacina	Enrofloxacin + ciprofloxacina
6	0.45	0.22	0.67
12	0.04	0.08	0.12
24	ND	ND	ND
48	ND	ND	ND

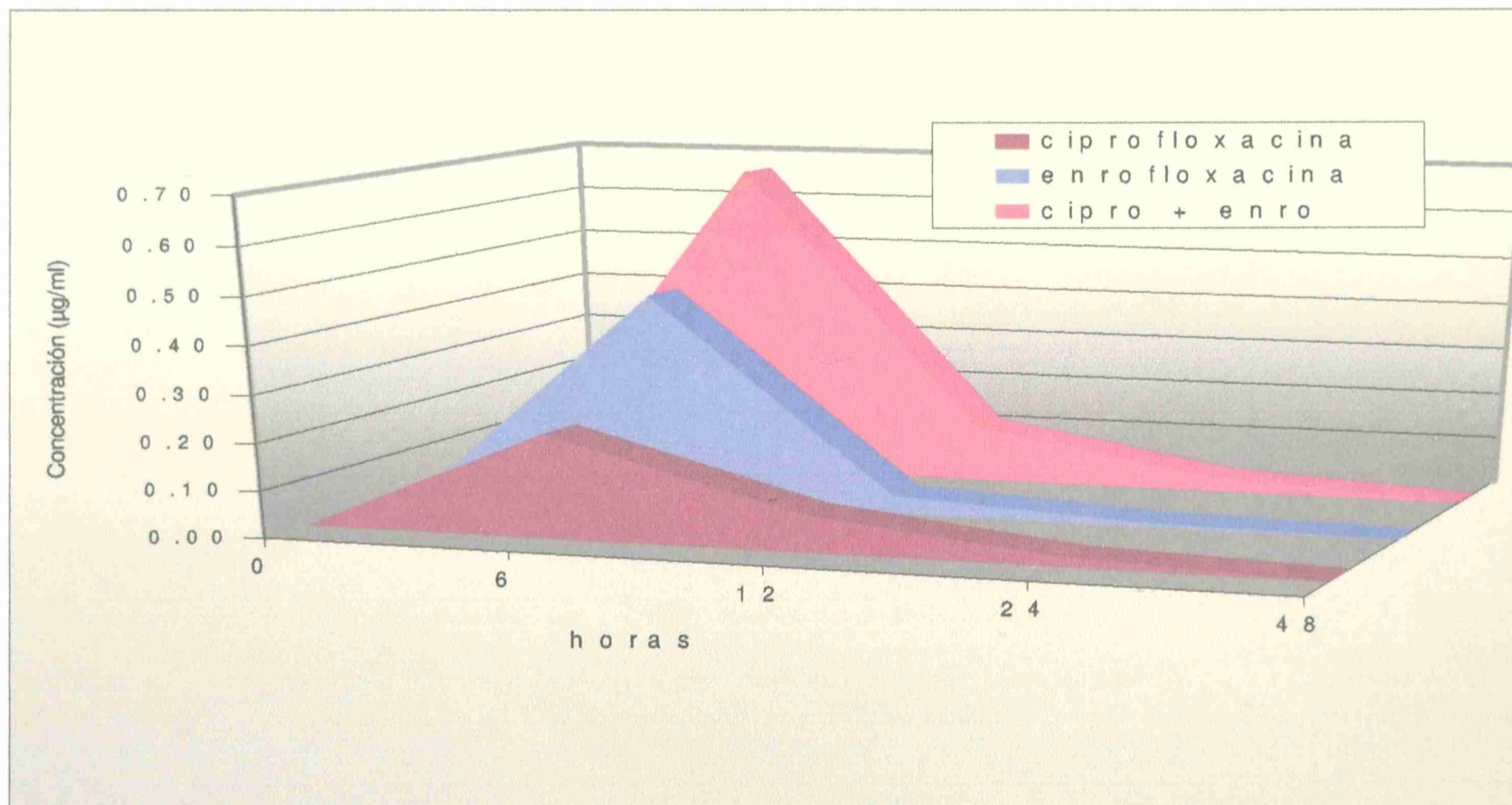


Figura 39. Concentraciones de enrofloxacin más ciprofloxacina en músculo de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Tabla 59. Concentraciones de enrofloxacin en sitio de inyección de ovejas luego de la administración intramuscular a una dosis de 2.5 mg/kg

Animales	Horas	Concentr.	Media
1	6	31,88	
1	6	34,06	<b>31.93</b>
2	6	31,13	
2	6	29,43	
3	12	0,44	
3	12	0,48	<b>0.40</b>
4	12	0,35	
4	12	0,38	
5	24	0,08	
5	24	0,06	<b>0.08</b>
6	24	0,10	
6	24	0,09	
7	48	ND	
7	48	ND	<b>ND</b>
8	48	ND	
8	48	ND	
9	96	ND	
9	96	ND	<b>ND</b>
10	96	ND	
10	96	ND	

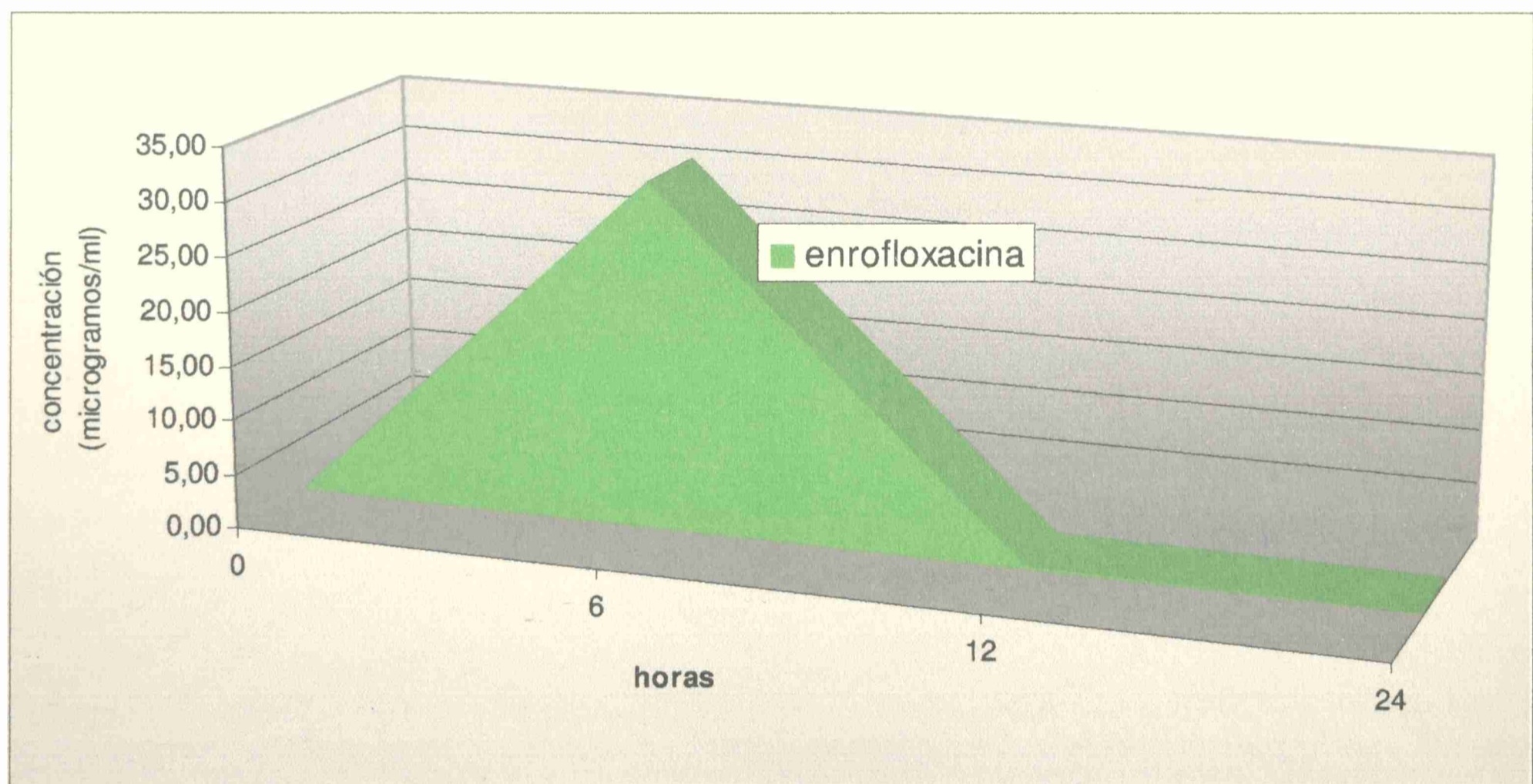


Figura 40. Concentraciones de enrofloxacin en el sitio de inyección de ovejas luego de la administración intramuscular a una dosis de 2.5 mg/kg

Tabla 60. Concentraciones de ciprofloxacina en sitio de inyección de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Animales	Horas	Concentr.	Media
1	6	1,85	<b>2</b>
1	6	2,01	
2	6	2,21	
2	6	1,93	
3	12	ND	<b>ND</b>
3	12	ND	
4	12	ND	
4	12	ND	
5	24	ND	<b>ND</b>
5	24	ND	
6	24	ND	
6	24	ND	

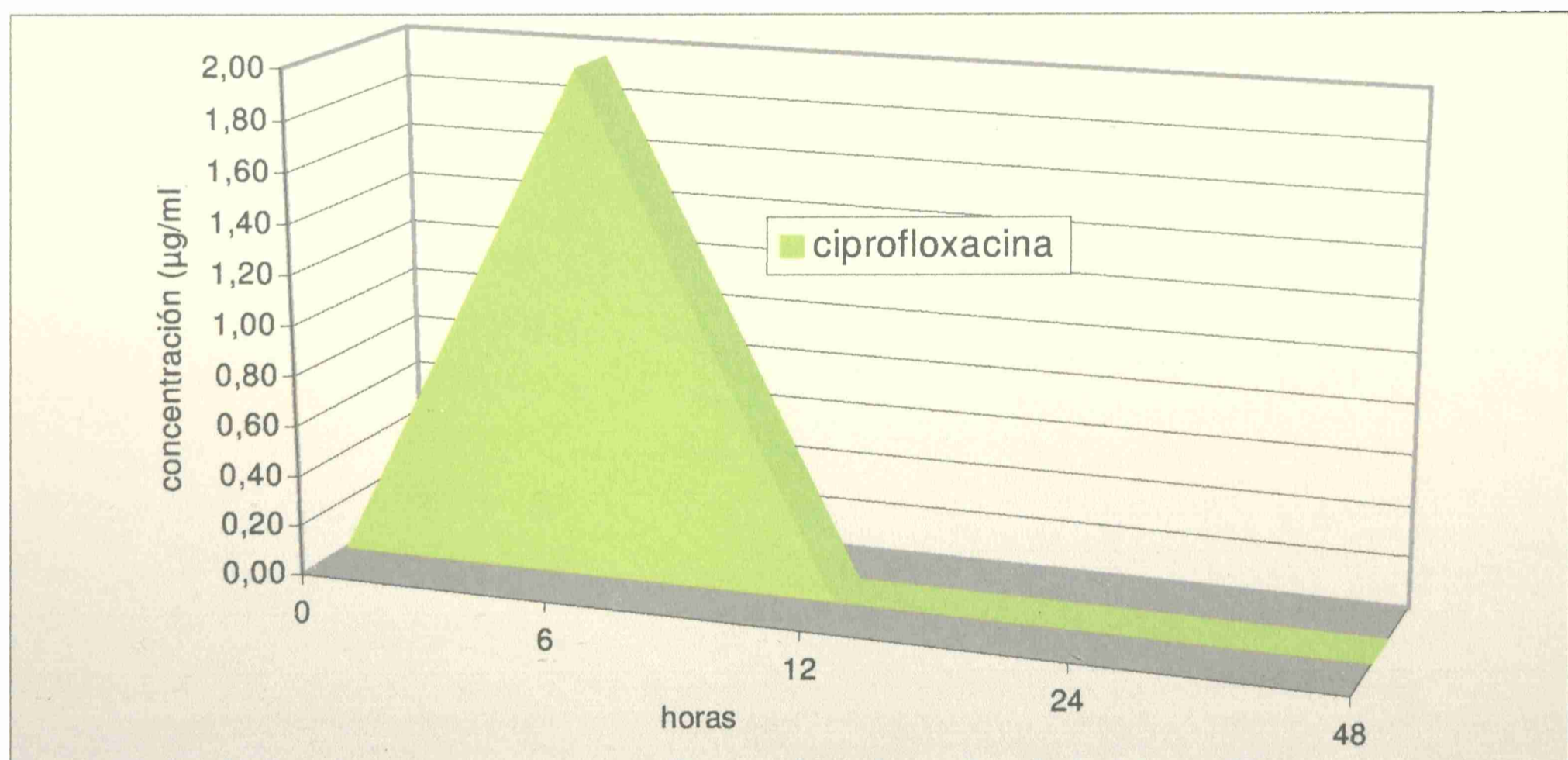


Figura 41. Concentraciones de ciprofloxacina en el sitio de inyección de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Tabla 61. Concentraciones de enrofloxacin más ciprofloxacina en sitio de inyección de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Horas	Enrofloxacin	Ciprofloxacina	Enrofloxacin + ciprofloxacina
6	31,93	2,00	<b>33,93</b>
12	0,40	ND	<b>0.40</b>
24	0,08	ND	<b>0.08</b>
48	ND	ND	<b>ND</b>
96	ND	ND	<b>ND</b>

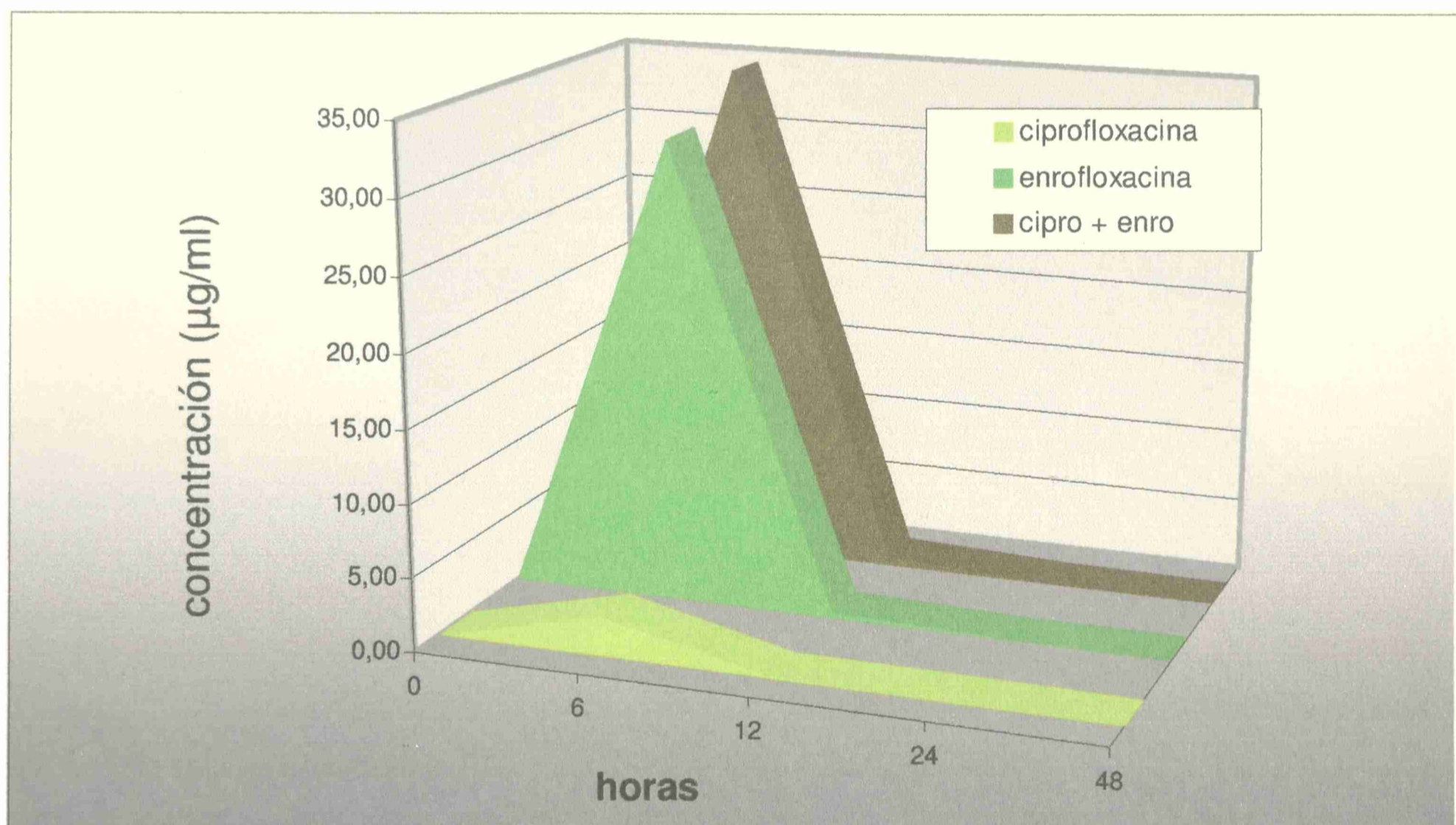


Figura 42. Concentraciones de enrofloxacin más ciprofloxacina en sitio de inyección de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Tabla 62. Concentraciones de enrofloxacin en hígado de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Animales	Horas	Concentr.	Media
1	6	1,14	
1	6	1,08	<b>1.15</b>
2	6	1,29	
2	6	1,09	
3	12	0,18	
3	12	0,18	<b>0.16</b>
4	12	0,14	
4	12	0,12	
5	24	0,07	
5	24	0,07	<b>0.06</b>
6	24	0,05	
6	24	0,04	
7	48	0,00	
7	48	0,00	<b>ND</b>
8	48	0,00	
8	48	0,00	
9	96	0,00	
9	96	0,00	<b>ND</b>
10	96	0,00	
10	96	0,00	

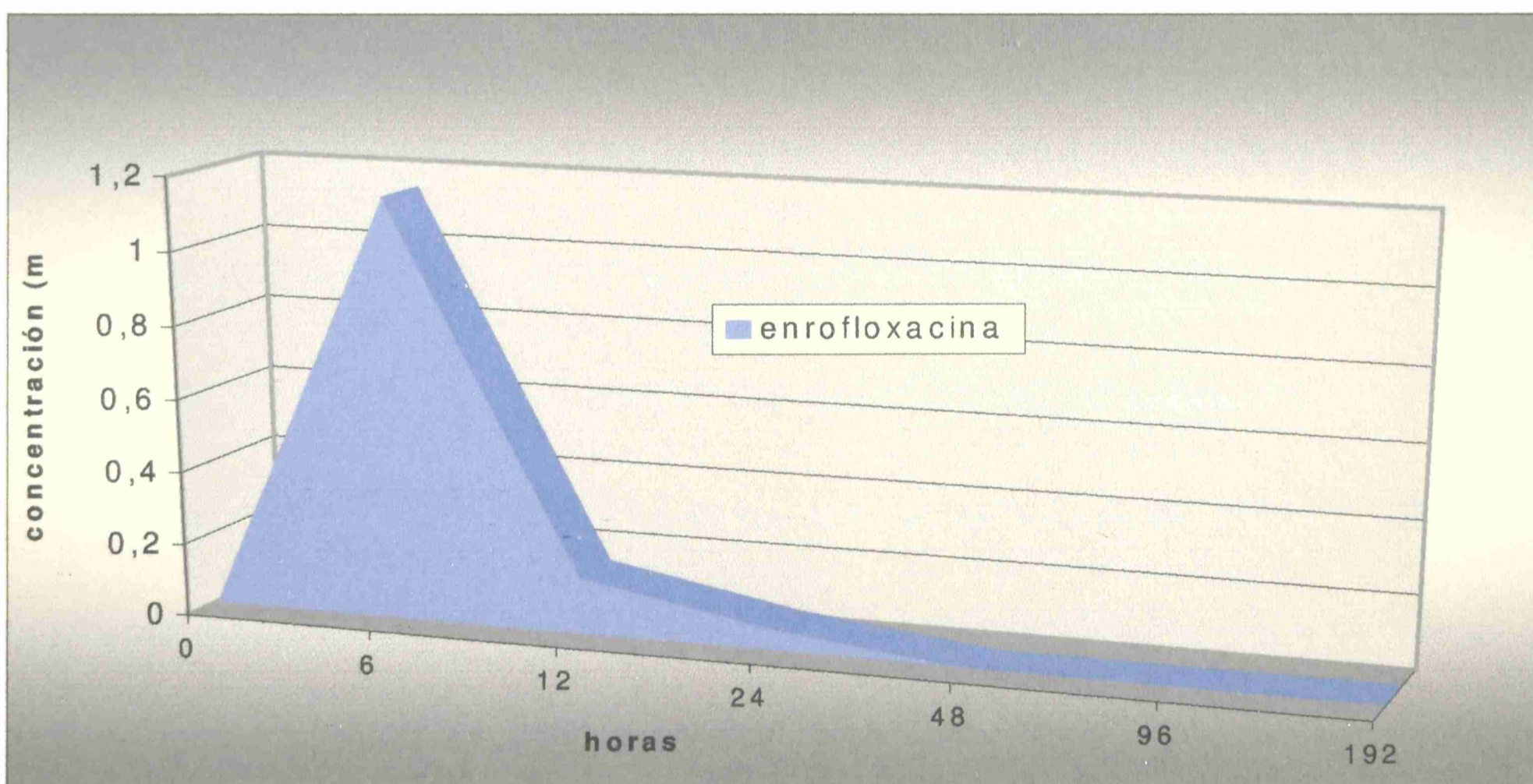


Figura 43. Concentraciones de enrofloxacin en hígado de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Tabla 63. Concentraciones de ciprofloxacina en hígado de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Animales	Horas	Concentr.	Media
1	6	0,05	<b>0.05</b>
2	6	0,06	
2	12	0,34	<b>0.31</b>
4	12	0,27	
5	24	0,15	<b>0.12</b>
6	24	0,09	
7	48	ND	<b>ND</b>
8	48	ND	
9	96	ND	<b>ND</b>
10	96	ND	

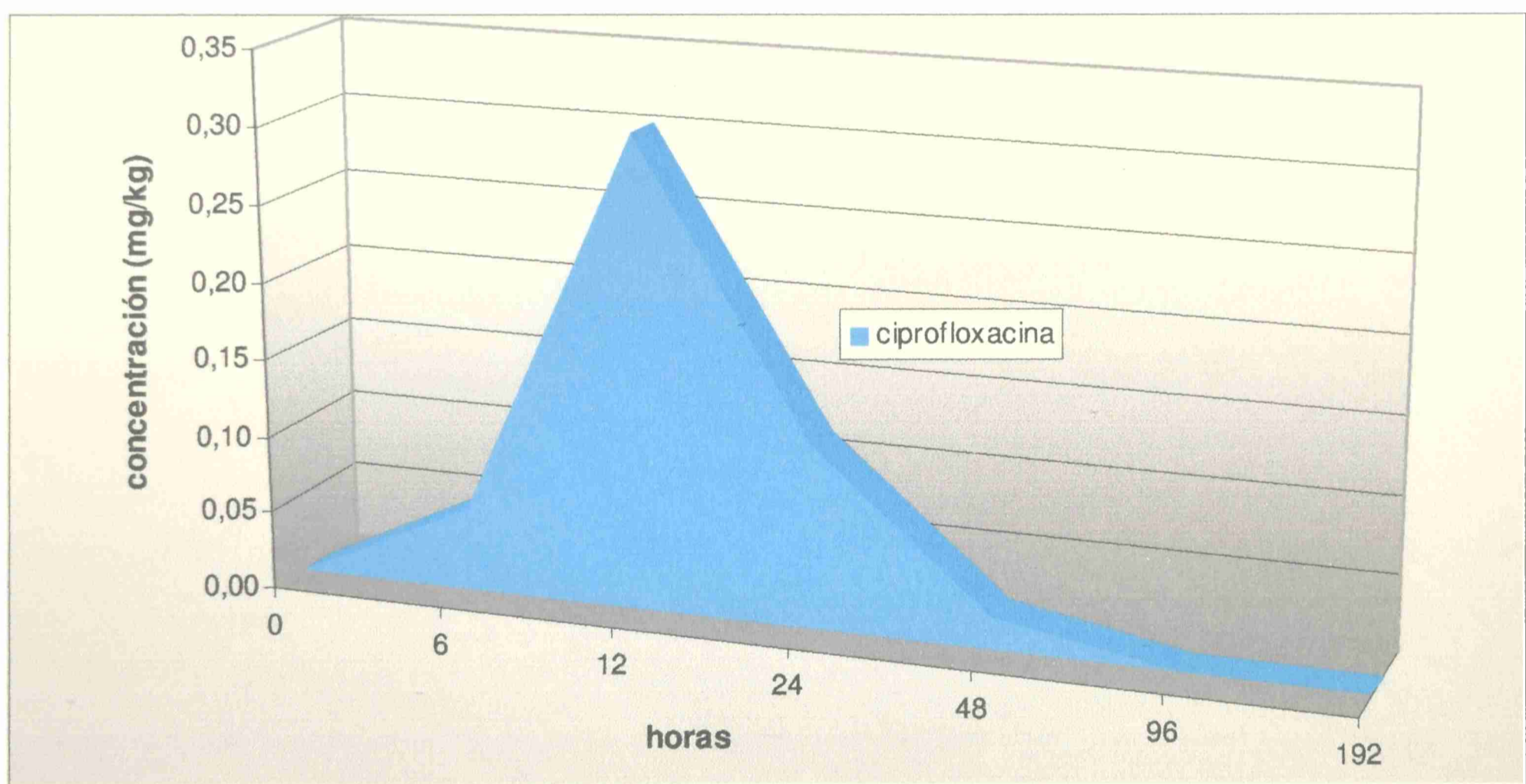


Figura 44. Concentraciones de ciprofloxacina en hígado de ovejas luego de la administración intramuscular a una dosis de 2.5 mg/kg



Tabla 64. Concentraciones de enrofloxacin más ciprofloxacina en hígado de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Horas	Enrofloxacin	Ciprofloxacina	Enrofloxacin + ciprofloxacina
6	1,15	0,05	<b>1,20</b>
12	0,16	0,31	<b>0,46</b>
24	0,06	0,12	<b>0,18</b>
48	ND	ND	<b>ND</b>
96	ND	ND	<b>ND</b>

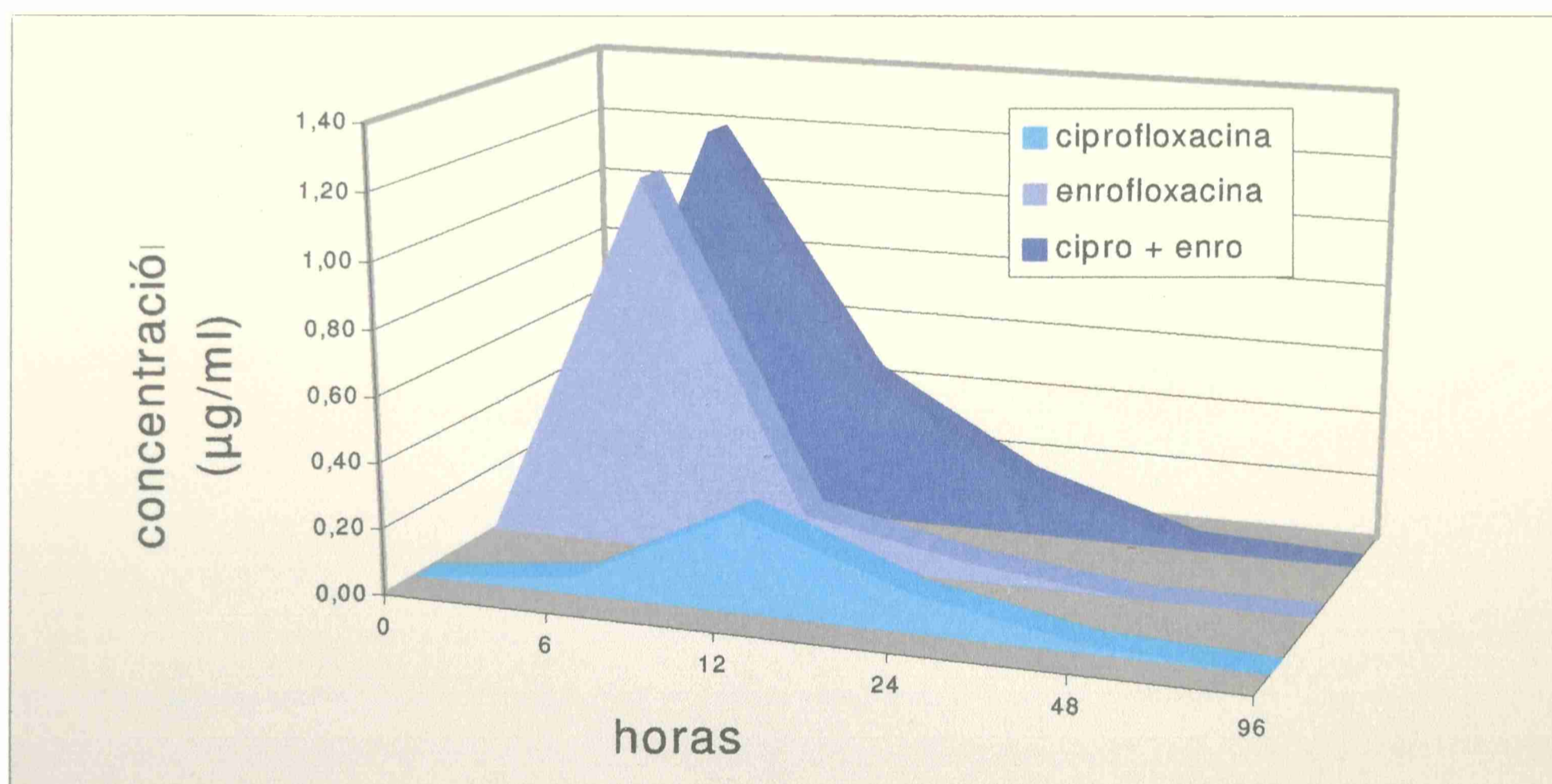


Figura 45. Concentraciones de enrofloxacin más ciprofloxacina en hígado de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Tabla 65. Concentraciones de enrofloxacin en riñón de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Animales	Horas	Concentr.	Media
1	6	0,74	
1	6	0,80	<b>0.75</b>
2	6	0,84	
2	6	0,62	
3	12	0,12	
3	12	0,14	<b>0.14</b>
4	12	0,15	
4	12	0,14	
5	24	ND	
5	24	ND	<b>ND</b>
6	24	ND	
6	24	ND	
7	48	ND	
7	48	ND	<b>ND</b>
8	48	ND	
8	48	ND	

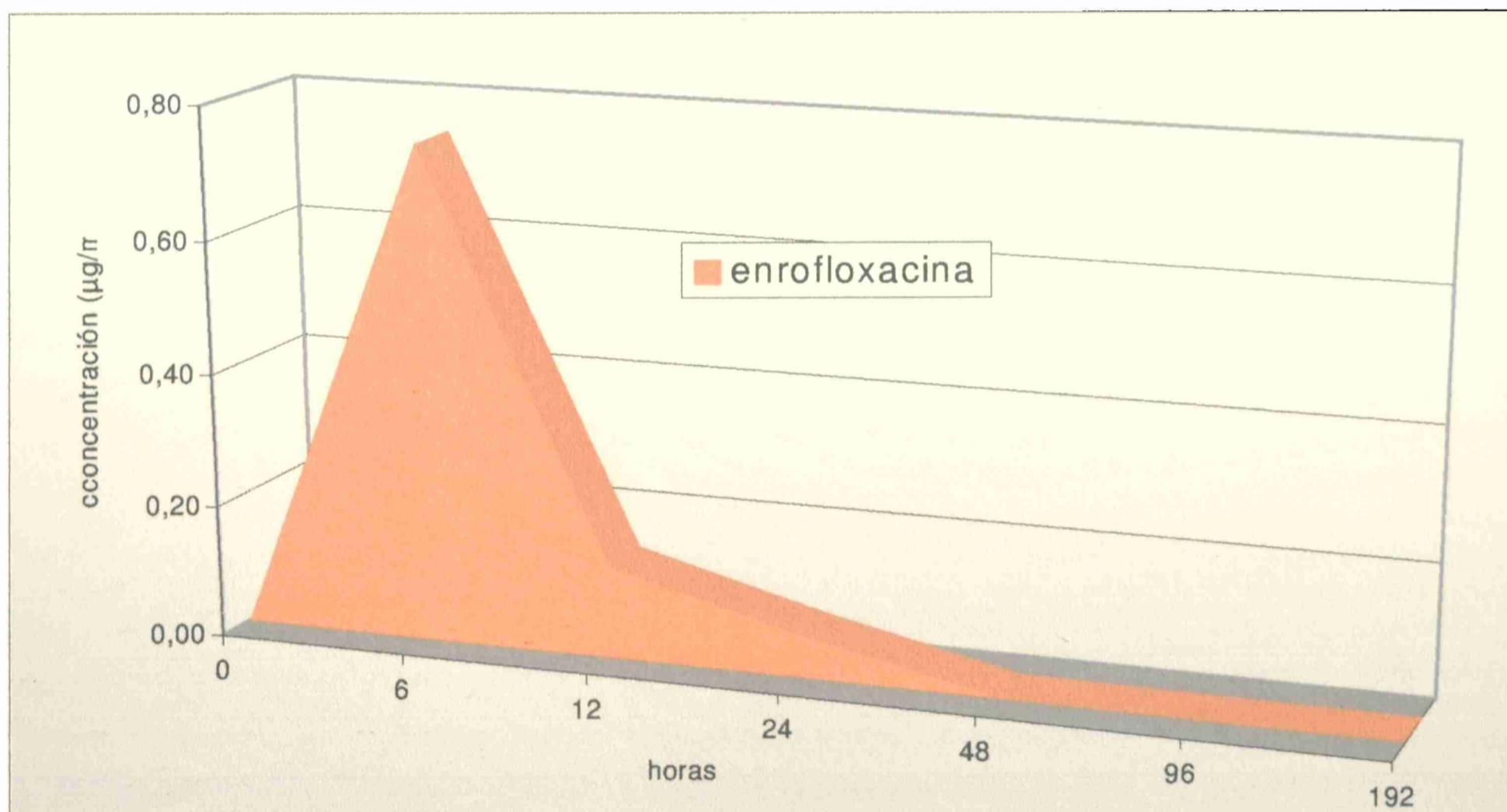


Figura 46. Concentraciones de enrofloxacin en riñón de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Tabla 66. Concentraciones de ciprofloxacina en riñón de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacina a una dosis de 2.5 mg/kg

Animales	Horas	Concentr.	Media
1	6	0,43	
1	6	0,46	<b>0.39</b>
2	6	0,31	
2	6	0,37	
3	12	0,26	
3	12	0,21	<b>0.22</b>
4	12	0,20	
4	12	0,22	
5	24	0,11	
5	24	0,10	<b>0.10</b>
6	24	0,08	
6	24	0,11	
7	48	ND	
7	48	ND	<b>ND</b>
8	48	ND	
8	48	ND	
9	96	ND	
9	96	ND	<b>ND</b>
10	96	ND	
10	96	ND	

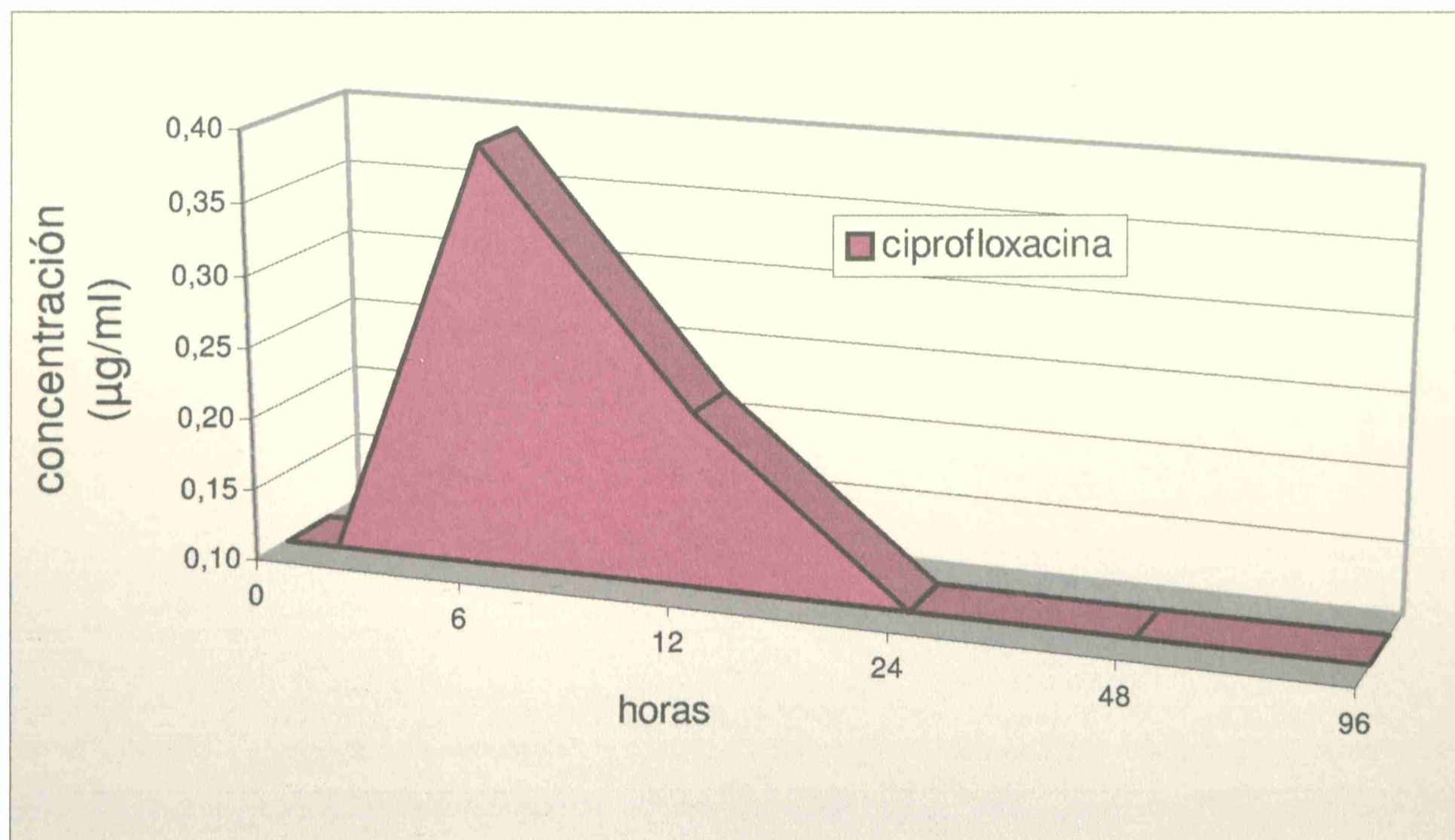


Figura 47. Concentraciones de ciprofloxacina en riñón de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacina a una dosis de 2.5 mg/kg

Tabla 67. Concentraciones de enrofloxacin más ciprofloxacina en riñón de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

Horas	Enrofloxacin	Ciprofloxacina	Enrofloxacin + ciprofloxacina
6	0.75	0.39	<b>1.14</b>
12	0.14	0.22	<b>0.36</b>
24	ND	0.10	<b>0.10</b>
48	ND	ND	<b>ND</b>
96	ND	ND	<b>ND</b>

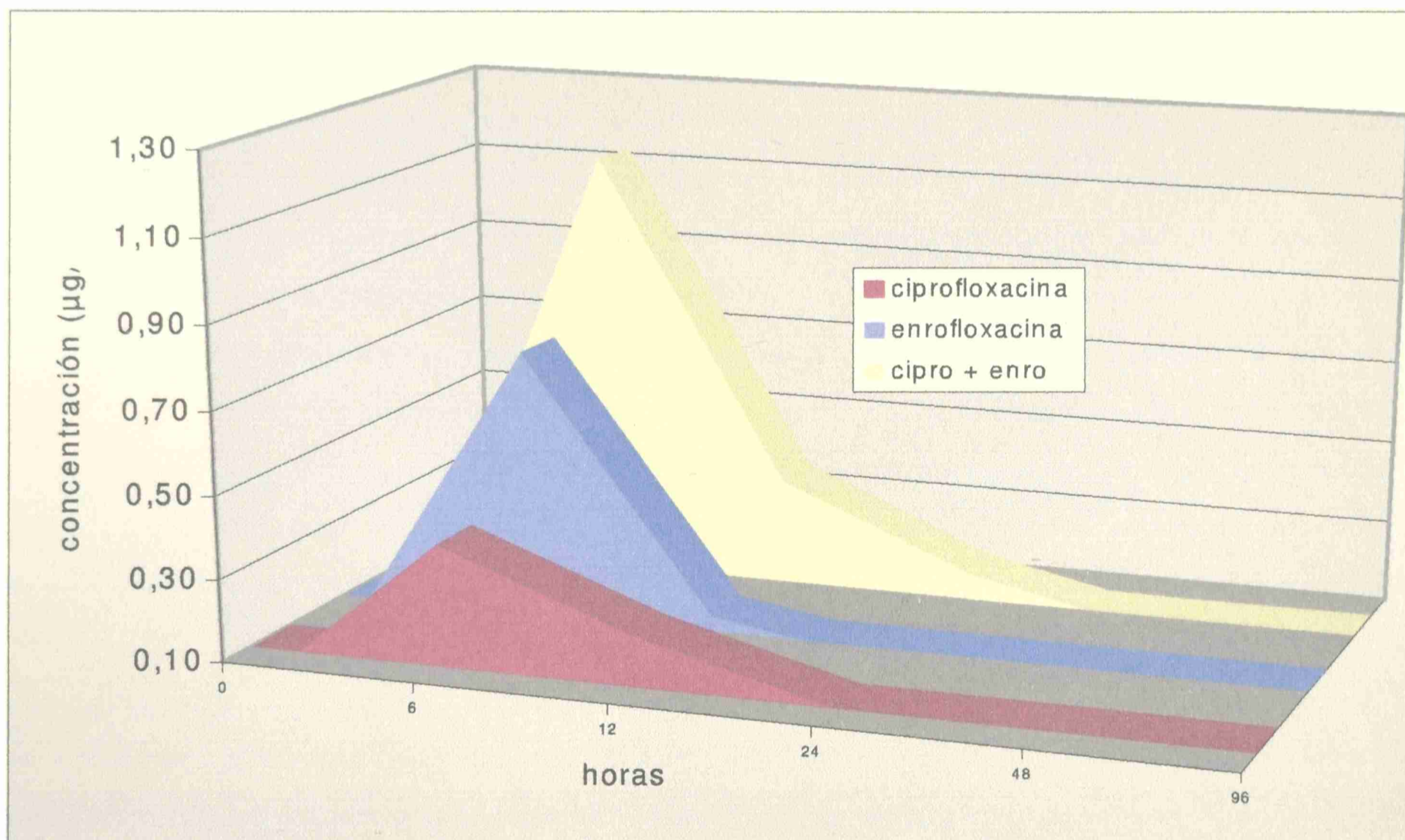


Figura 48. Concentraciones de enrofloxacin más ciprofloxacina en riñón de ovejas luego de la administración intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 2.5 mg/kg

## **V.7. Resultados estadísticos**

### **V.7.1. De los métodos de análisis estadísticos**

Para la comparación de los valores de los parámetros farmacocinéticos obtenidos para las distintas vías de administración, y por los distintos métodos de modelización y cálculo, se utilizaron pruebas no paramétricas. La comparación entre dos tratamientos se hizo con la prueba de Mann-Whitney, y entre más de dos tratamientos con la prueba de Kruskal-Wallis. Se prefirió utilizar pruebas no paramétricas antes que ANOVA debido a que las varianzas no fueron siempre homogéneas, y el número de datos es bajo ( $n=8$ ).

Las comparaciones se hicieron entre parámetros cuando el tipo de modelo cinético o la metodología de cálculo de los parámetros así lo permitieron. No se realizaron comparaciones entre parámetros para los cuales eran esperables diferencias significativas dados los métodos de análisis farmacocinético. Los parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin obtenidos para las distintas vías de administración, y por los distintos métodos de análisis cinético, se presentan en las tablas 68a, 69, 70, y 71. Los correspondientes parámetros farmacocinéticos de la ciprofloxacina obtenidos para las distintas vías de administración por medio de fórmulas clásicas, se presentan en las tablas 68b.

Tabla 68a. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa, intramuscular y subcutánea (calculados con PKCALC)

Parámetros	unidad	IV	IM	SC
<b>TMR</b>	h	3.02	1.83	2.15
<b>T<sub>1/2β</sub></b>	h	2.08	2.57	1.95
<b>β</b>	(h <sup>-1</sup> )	1.44	1.78	1.35
<b>ABC<sub>(0-t)</sub></b>	μg·h/ml	8.32	6.75	5.04
<b>ABC<sub>(0-∞)</sub></b>	μg·h/ml	8.90	7.58	5.40
<b>Cl<sub>total</sub></b>	ml/h/kg	0.33	0.38	0.39
<b>V<sub>ss</sub></b>	L/kg	0.87	0.80	0.87

Tabla 68b. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ciprofloxacina en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa, intramuscular y subcutánea (calculados mediante ecuaciones)

Parámetros	unidad	IV	IM	SC
<b>C<sub>max</sub></b>	μg/mL	0.26	0.21	0.21
<b>T<sub>max</sub></b>	h	1.57	2	0.88
<b>TMR</b>	h	16.08	18.6	16.61
<b>T<sub>1/2β</sub></b>	h	14.22	15.93	11.92
<b>Const. de eliminación</b>	h <sup>-1</sup>	0.07	0.06	0.07
<b>ABC<sub>(0-t)</sub></b>	μg·h/ml	1.37	1.32	0.84
<b>ABC<sub>(0-∞)</sub></b>	μg·h/ml	2.40	2.61	2.66

Tabla 69. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa, intramuscular y subcutánea (calculados mediante ecuaciones)

<b>Parámetros</b>	<b>unidad</b>	<b>IV</b>	<b>IM</b>	<b>SC</b>
<b>C<sub>max</sub></b>	μg/mL	6.83	2.31	2.02
<b>T<sub>max</sub></b>	h		0.50	0.63
<b>TMR</b>	h	2.75	3.74	3.30
<b>T<sub>1/2β</sub></b>	h	2.12	2.58	2.19
<b>Const. de eliminación</b>	h <sup>-1</sup>	0.35	0.30	0.33
<b>ABC<sub>(0-t)</sub></b>	μg·h/ml	8.37	6.80	5.41
<b>ABC<sub>(0-∞)</sub></b>	μg·h/ml	9.24	7.68	5.75
<b>Cl</b>	ml/h/kg	0.31	0.42	0.45
<b>V<sub>ss</sub></b>	L/kg	0.79	1.35	1.48

Tabla 70. Parámetros farmacocinéticos compartimentales obtenidos con CSTRIP en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa.

Parámetros	unidad	IV	IM	SC
<b>A</b>	μg/ml	5.25	3.72	2.42
<b>P</b>	μg/ml	2.68	-4.47	-3.40
<b>B</b>	μg/ml	1.27	1.30	1.22
<b>α</b>	h-1	13.34	1.13	0.89
<b>π</b>	h-1	1.13	-	-
<b>β</b>	h-1	0.17	0.38	0.28
<b>K<sub>abs</sub></b>	h-1	-	6.78	6.18
<b>t<sub>1/2α</sub></b>	h	0.06	0.63	0.83
<b>t<sub>1/2π</sub></b>	h	0.65	-	-
<b>t<sub>1/2β</sub></b>	h	4.13	2.80	3.11
<b>K<sub>12</sub></b>	h-1	5.99	0.28	0.18
<b>K<sub>21</sub></b>	h-1	6.39	0.62	0.48
<b>K<sub>12</sub> / K<sub>21</sub></b>		0.99	0.64	0.50
<b>K<sub>13</sub></b>	h-1	0.82	-	-
<b>K<sub>31</sub></b>	h-1	0.46	-	-
<b>K<sub>13</sub> / K<sub>31</sub></b>		1.94	-	-
<b>K<sub>10</sub></b>	h-1	0.99	0.61	0.50
<b>V<sub>c</sub></b>	L/kg	0.28	0.72	0.75
<b>V<sub>p2</sub></b>	L/kg	0.26	0.36	0.38
<b>V<sub>p3</sub></b>	L/kg	0.52	-	-
<b>Vd<sub>ss</sub></b>	L/kg	1.06	1.08	1.13
<b>Cl</b>	?	0.27	0.41	0.36
<b>Cl<sub>2</sub></b>	?	1.62	0.18	0.13
<b>Cl<sub>3</sub></b>	?	0.23	-	-



Tabla 71. Parámetros farmacocinéticos compartimentales no lineales (ADAPT II) en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa, intramuscular y subcutánea.

Parámetro	unidad	IV	IM	SC
<b>A</b>	μg/ml	5.13	2.36	3.14
<b>P</b>	μg/ml	2.74	-	-
<b>B</b>	μg/ml	0.98	0.85	0.93
<b>α</b>	h <sup>-1</sup>	11.76	1.07	1.58
<b>π</b>	h <sup>-1</sup>	0.97	-	-
<b>β</b>	h <sup>-1</sup>	0.16	0.21	0.24
<b>t<sub>1/2α</sub></b>	h	0.07	0.74	0.48
<b>t<sub>1/2π</sub></b>	h	0.76	-	-
<b>t<sub>1/2β</sub></b>	h	4.57	4.20	3.40
<b>K<sub>12</sub></b>	h <sup>-1</sup>	5.16	0.32	0.55
<b>K<sub>21</sub></b>	h <sup>-1</sup>	5.41	0.51	0.58
<b>K<sub>12</sub> / K<sub>21</sub></b>		0.97	0.72	1.12
<b>K<sub>13</sub></b>	h <sup>-1</sup>	0.67	-	-
<b>K<sub>31</sub></b>	h <sup>-1</sup>	0.35	-	-
<b>K<sub>13</sub> / K<sub>31</sub></b>		1.96	-	-
<b>K<sub>10</sub></b>	h <sup>-1</sup>	1.00	0.45	0.69
<b>V<sub>c</sub></b>	L/kg	0.29	0.87	0.63
<b>Vp 2</b>	L/kg	0.27	0.59	0.70
<b>Vp 3</b>	L/kg	0.55	-	-
<b>Vd<sub>ss</sub></b>	L/kg	1.10	1.46	1.32
<b>Cl<sub>total</sub></b>	ml/h·kg	0.29	0.41	0.43
<b>Cl 2</b>	ml/h·kg	1.44	0.13	0.22
<b>Cl 3</b>	ml/h·kg	0.19	-	-
<b>F</b>			0.83	0.61

## **V.7.2. Comparaciones entre parámetros farmacocinéticos correspondientes a las distintas vías de administración de la enrofloxacin**

### **V.7.2.1. Concentraciones plasmáticas máximas ( $C_{max}$ ) de la enrofloxacin**

Si bien no es absolutamente correcto hablar de concentraciones máximas cuando una droga se administra por vía intravascular, se consideró como  $C_{max}$  la primer medición de la concentración plasmática de la enrofloxacin luego de la administración intravenosa, a los 2.5 minutos, simplemente a fines de lograr una estimación aproximada de cual es la máxima concentración que alcanza la droga.

Al comparar, mediante la prueba de Kruskal–Wallis, la  $C_{max}$  para las diferentes vías de administración se encontró evidencias de diferencias estadísticas altamente significativas ( $p < 0.001$ ), si bien del gráfico se desprende que la vía que produjo las diferencias encontradas es la vía endovenosa. Razón por la cual, se comparó, mediante la prueba de Mann-Whitney, a las vías subcutánea e intramuscular y se corroboró lo observado gráficamente ( $p = 0.574$ ). Podemos concluir que las  $C_{max}$  obtenidas luego de la administración intravenosa son significativamente mayores que las  $C_{max}$  alcanzadas luego de la administración intramuscular y subcutánea, lo cual es absolutamente predecible. No existieron diferencias significativas entre las vías extravasculares. (Fig 49 y Tablas LVI, LVII, LVIII y LIX del anexo).

### **V.7.2.2. Tiempo al que se alcanza la $C_{max}$ ( $T_{max}$ ) de la enrofloxacin**

No existieron diferencias significativas entre los  $T_{max}$  para las vías intramuscular y subcutánea (Tabla LX del anexo ). Sin embargo, el gráfico de caja (Fig 50) muestra que los valores de  $T_{max}$  para la vía subcutánea son algo mayores.

Figura 49. Gráfico de caja de la distribución de las concentraciones máximas en plasma luego de la inyección de enrofloxacin por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea (salida de SPSS).

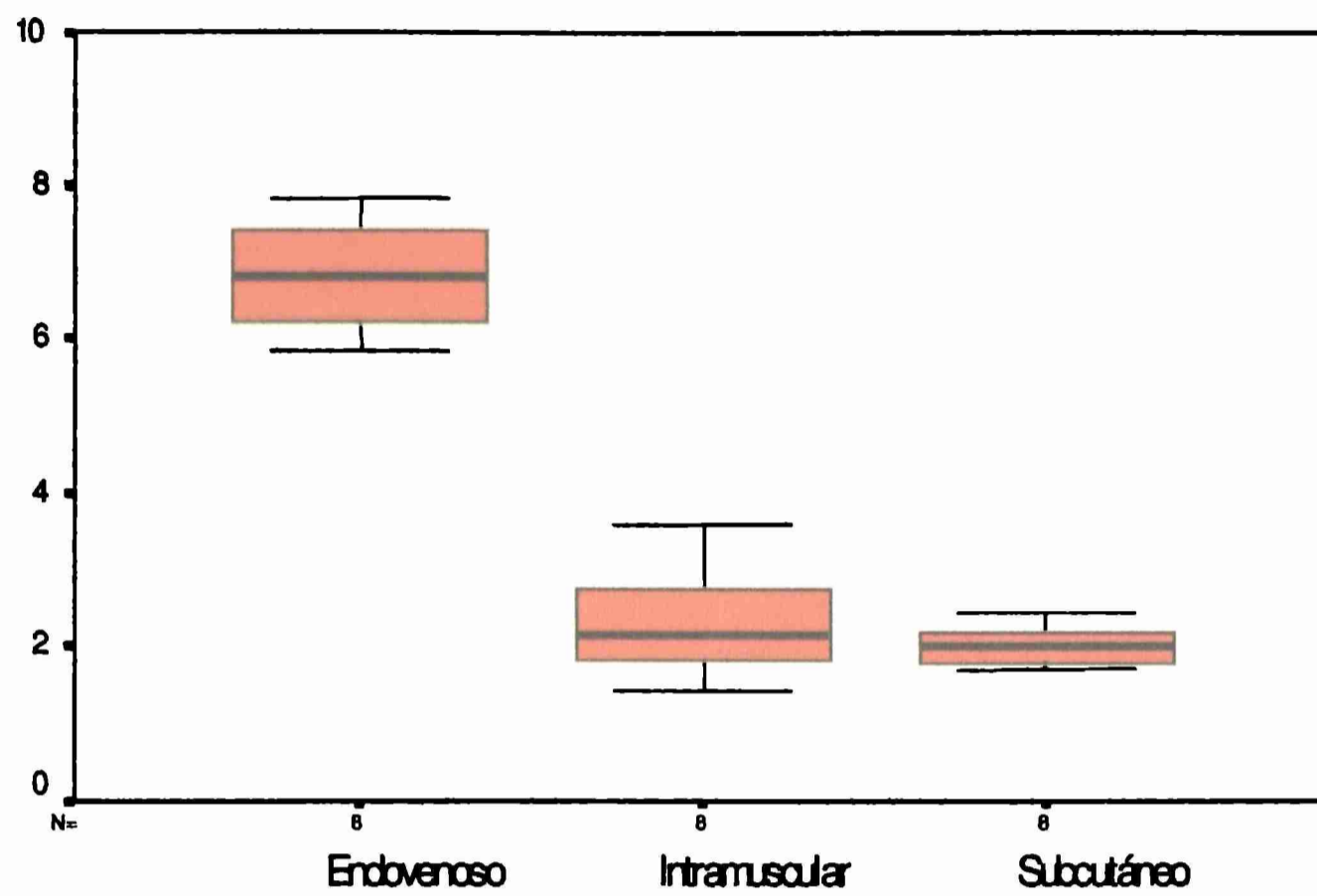
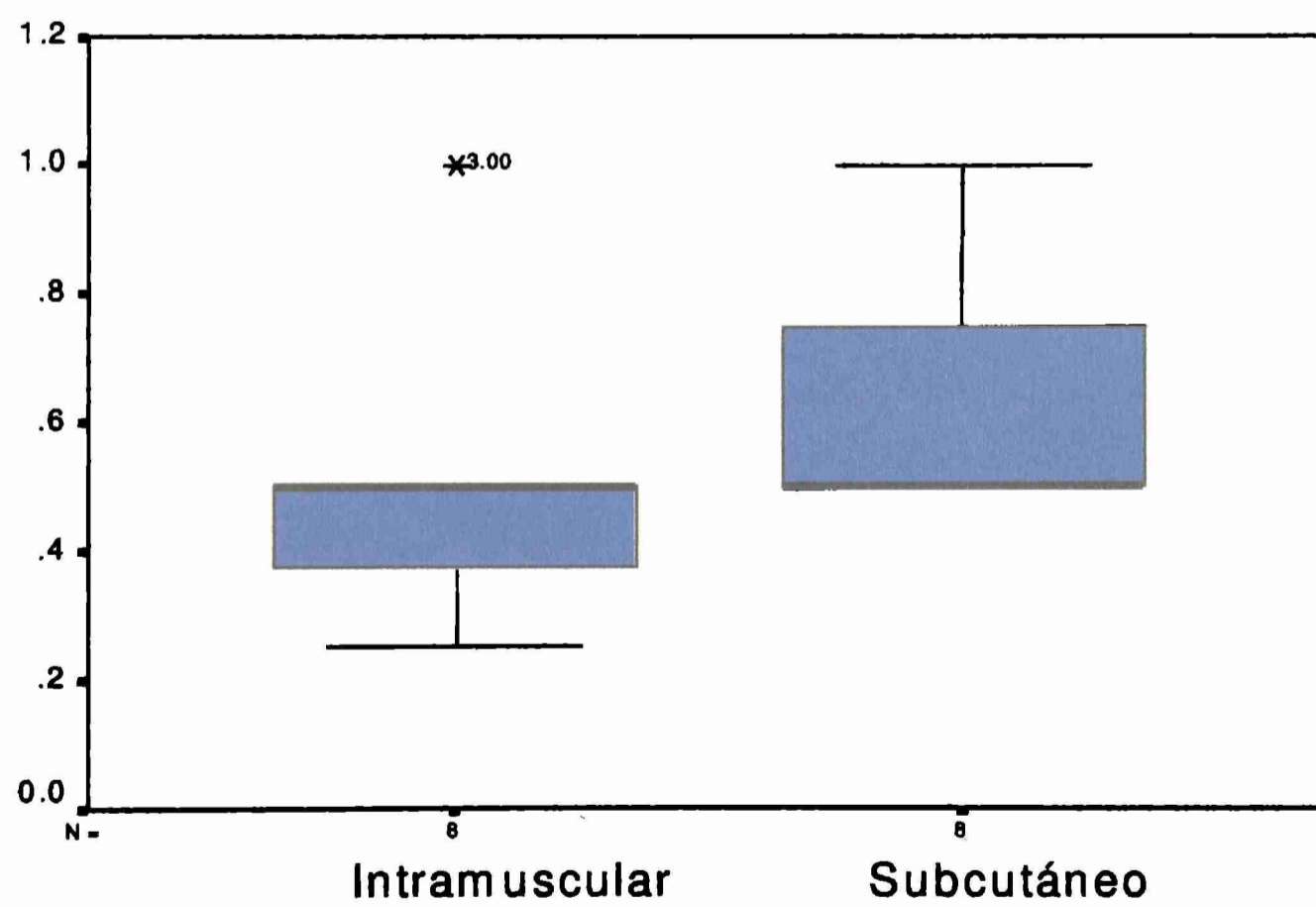


Figura 50. Gráfico de caja de la distribución de los tiempos a los cuales se alcanzaron las concentraciones máximas en plasma luego de la inyección de enrofloxacin por las vías intramuscular y subcutánea (salida de SPSS).



### V.7.2.3. Constante de absorción ( $K_{abs}$ ) de la enrofloxacin

Se han encontrado diferencias significativas entre los valores de las constantes de absorción correspondientes a las vías intramuscular y subcutánea (Fig 51a y Tabla LXIa del anexo ). Sin embargo, cuando se compararon las constantes de absorción para ambas vías calculadas por regresión lineal (CSTRIP) no surgieron diferencias significativas (Fig 51b y Tabla LXIb del anexo ).

Figura 51a. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las constante de absorción de la enrofloxacin luego de la administración intramuscular y subcutánea, respectivamente, calculados por regresión no lineal (ADAPT) (salida de SPSS).

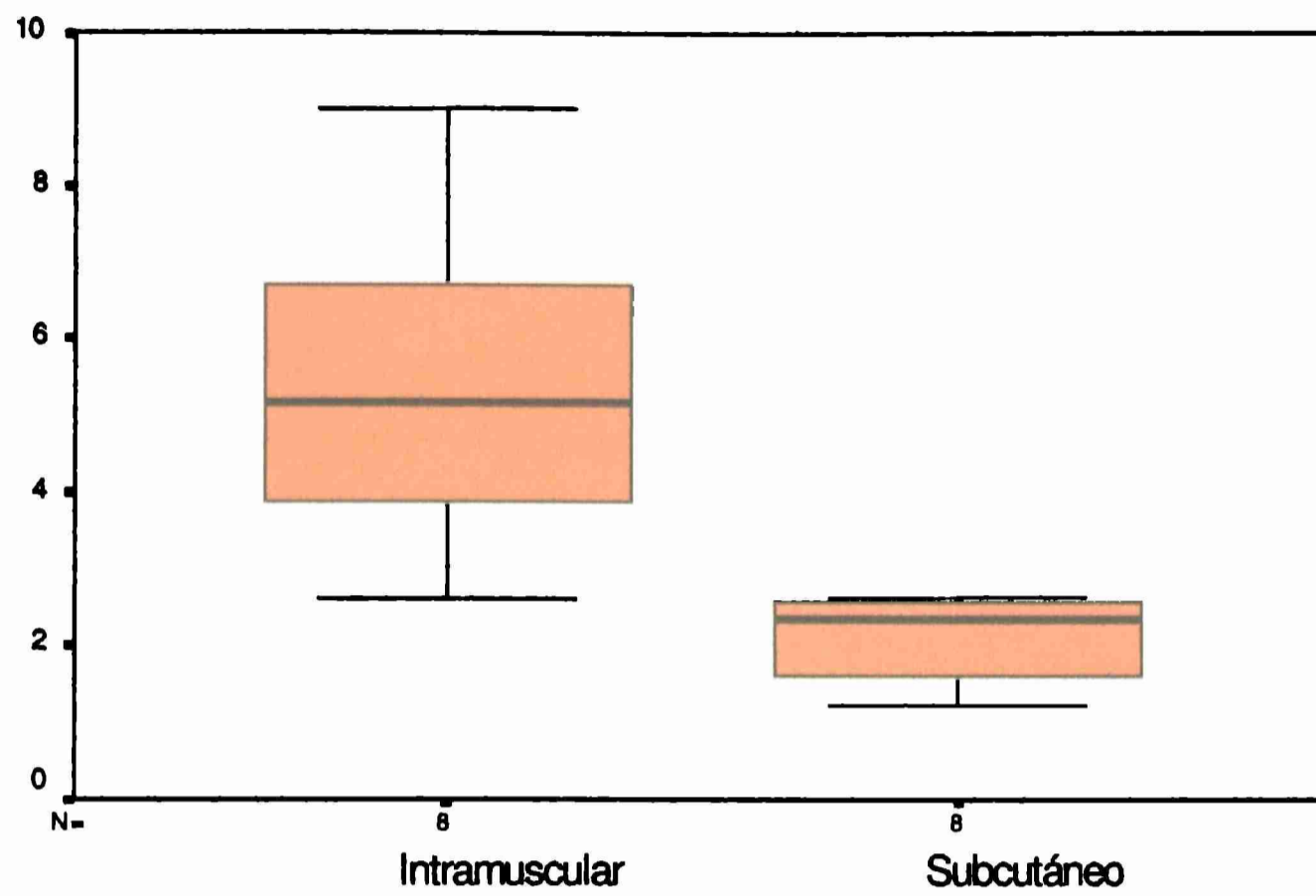
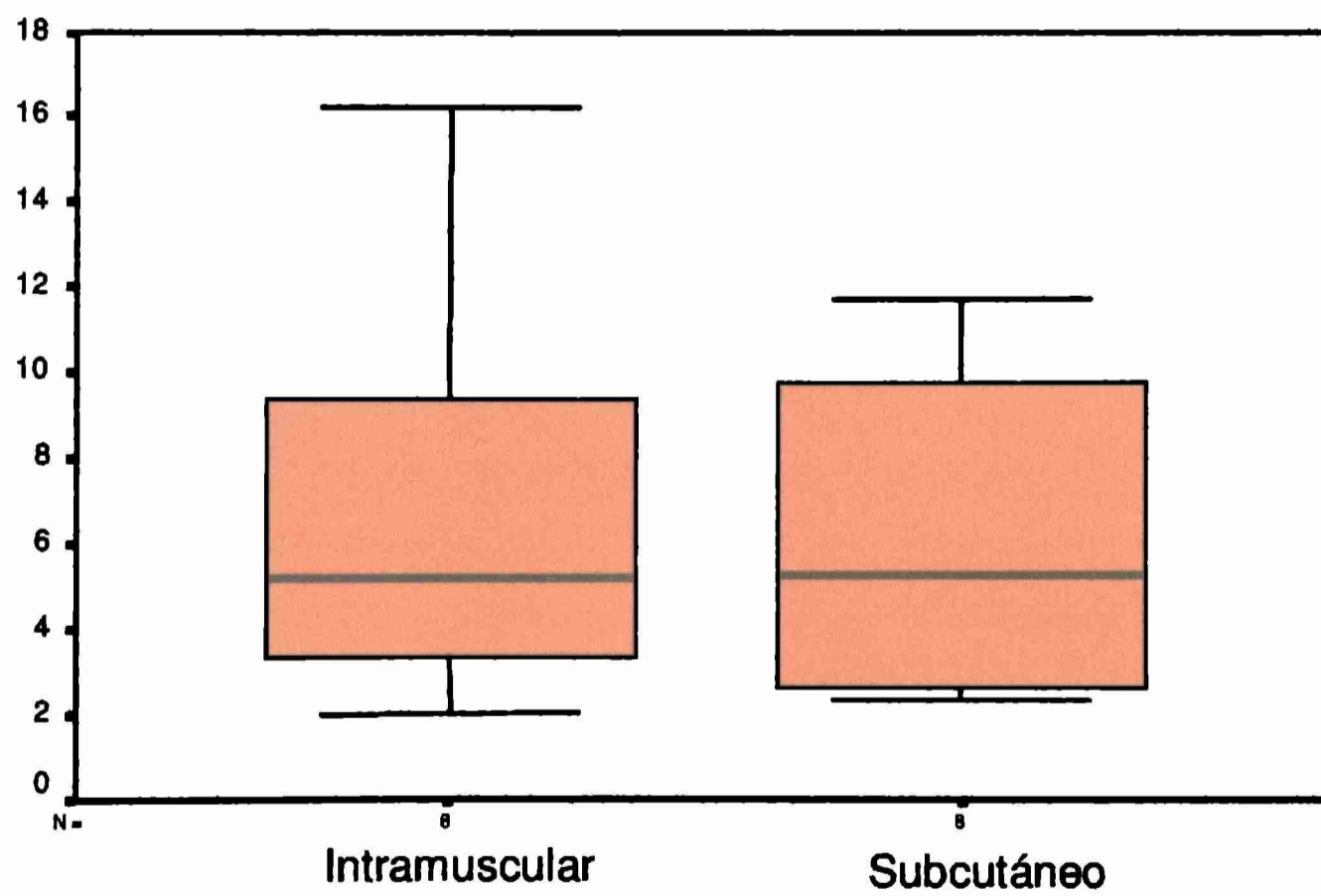


Figura 51b. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las constante de absorción de la enrofloxacin luego de la administración intramuscular y subcutánea, respectivamente, calculados por regresión lineal (CSTRIP) (salida de SPSS).



**V.7.2.4. Area bajo la curva de concentración de enrofloxacin desde el tiempo cero al tiempo de la última determinación ( $ABC_{0-t}$ ) y a infinito ( $ABC_{0-\infty}$ )**

En ambas figuras (52a y 52 b) se observa un comportamiento similar para los tres tipos de administración, siendo más variables las áreas correspondientes a las vías endovenosas e intramuscular que la subcutánea. Al comparar, mediante la prueba de Kruskal-Wallis, las áreas medias según vía de administración se concluye que no hay diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los dos casos,  $ABC_{0-t}$  y  $ABC_{0-\infty}$ ,  $p=0.130$  y  $p=0.127$  respectivamente (Tabla LXII del anexo).

Figura 52a. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin, de cero a tiempo, luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

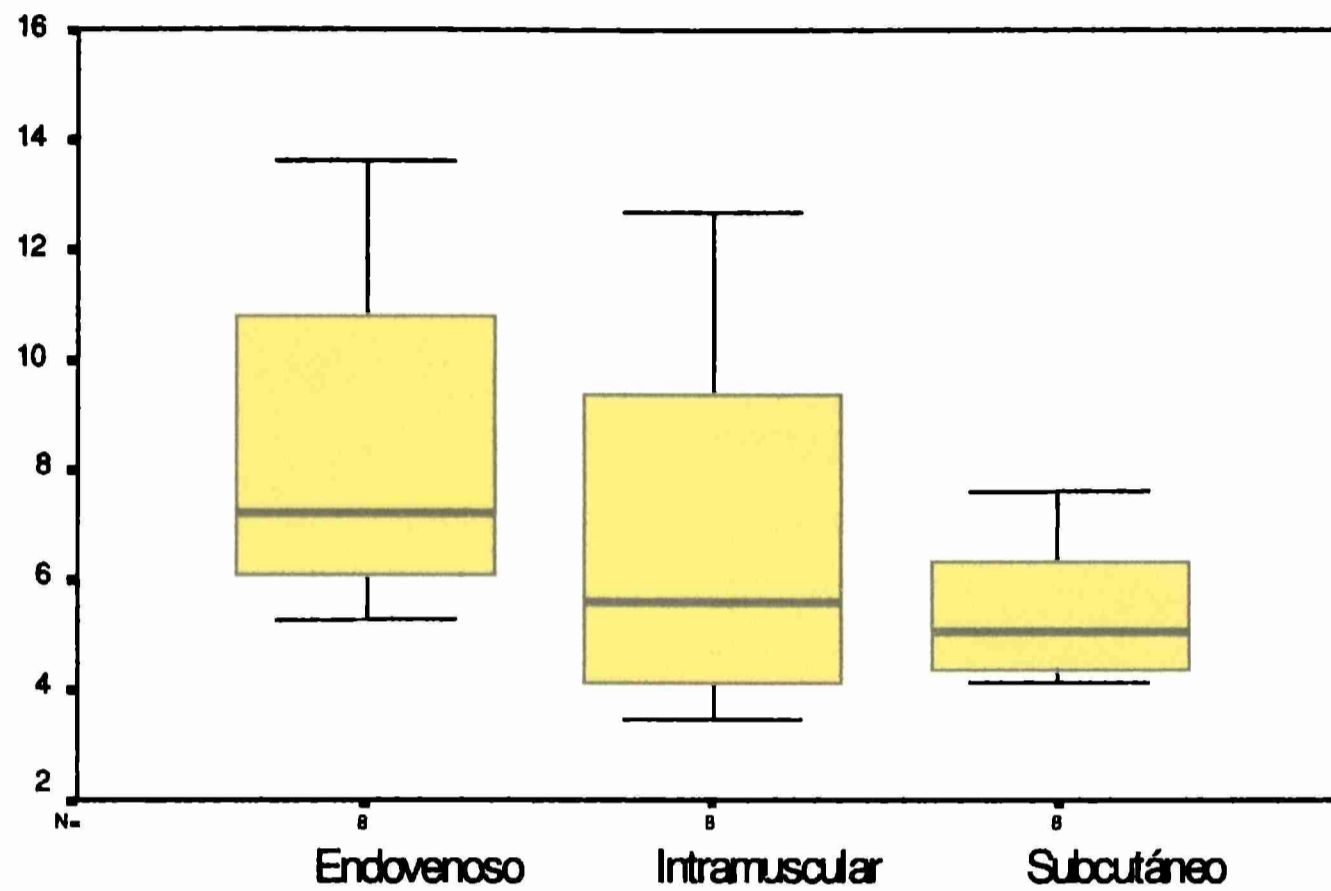
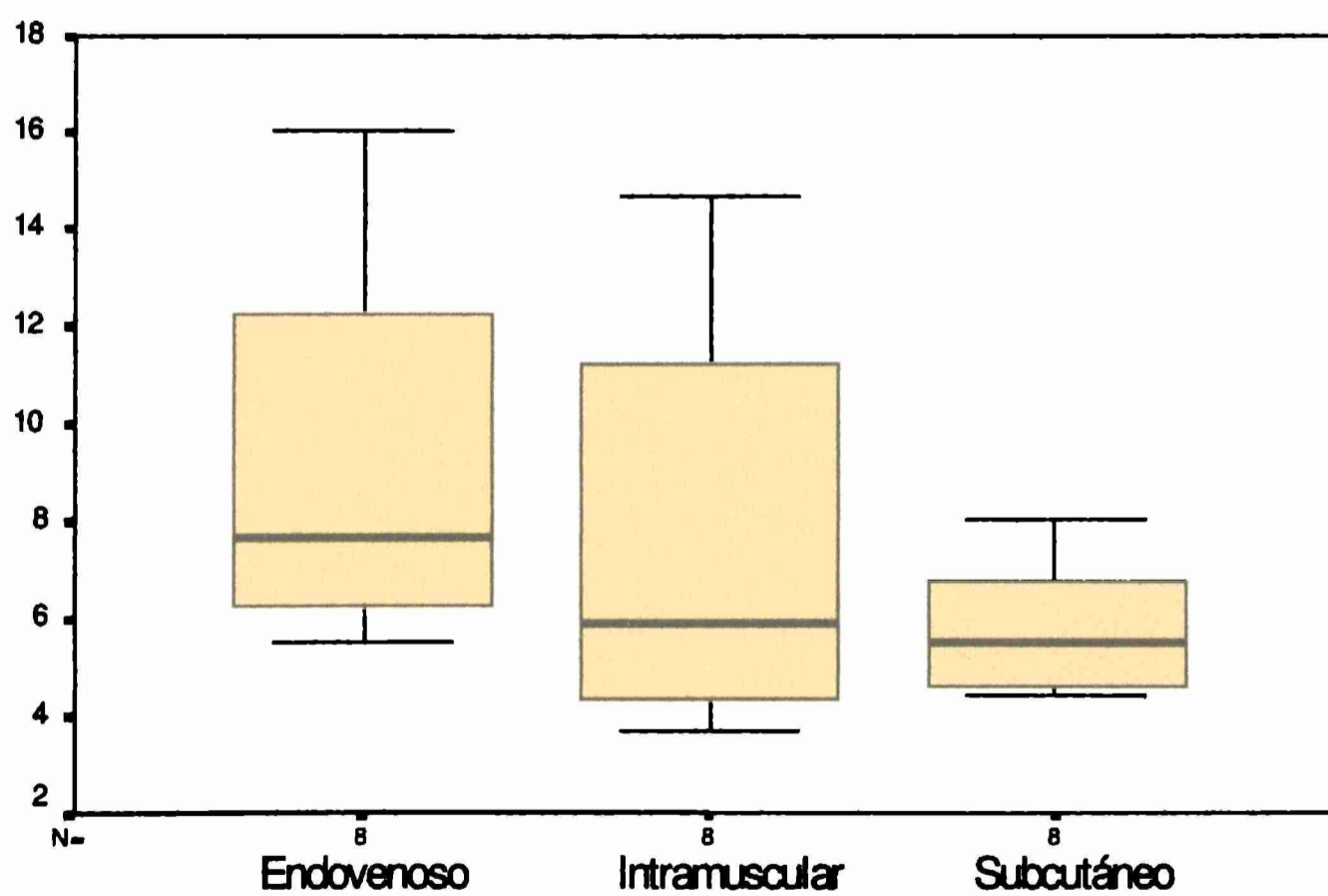


Figura 52 b. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin, de cero a infinito, luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).



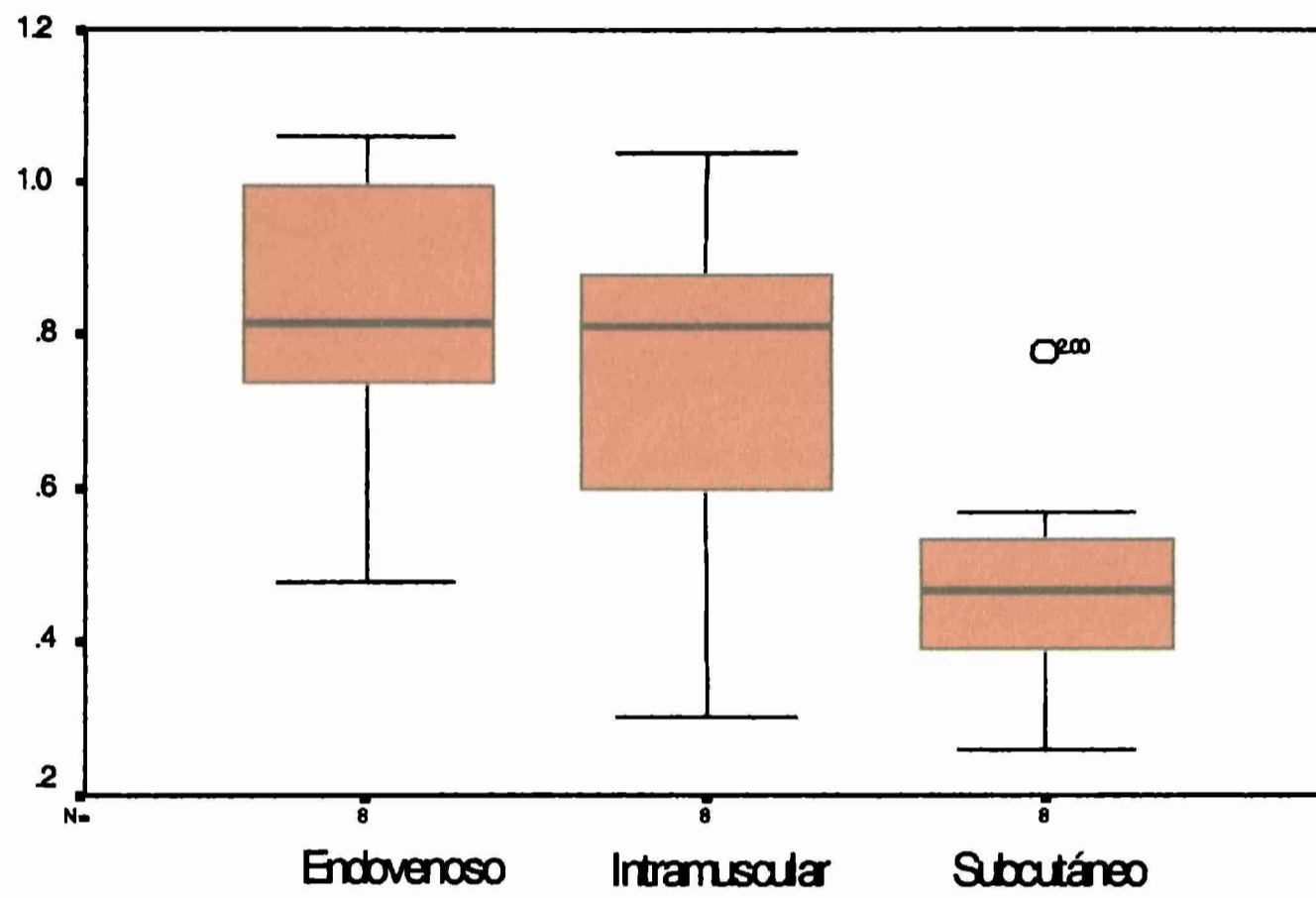
#### V.7.2.5. Semivida de distribución de la enrofloxacin

Se encontraron diferencias significativas cuando se compararon los valores de las semividas de distribución para las tres vías de administración.

Sin embargo, cuando la comparación se hizo entre cada una de las vías de administración, las diferencias significativas se encontraron entre las vías subcutáneas e intravenosa, y entre las subcutánea e intramuscular, respectivamente, pero no entre las vías intravenosa e intramuscular (Fig 53 y Tablas LXIII y LXIV del anexo). De ello se desprende que las semividas de distribución correspondientes a las vías endovenosa e intramuscular son similares, y a la vez mayores que para la vía subcutánea, y que a excepción por el valor alejado encontrado en esta última vía, casi el 100 % de los valores de semivida son menores que el primer cuartil de las otras dos. Esta figura permitiría inferir que al comparar, en promedio, las tres vías podrían detectarse diferencias estadísticamente significativas, producidas por la vía subcutánea, pero que podrían considerarse estadísticamente iguales a las vías endovenosa e intramuscular. Estas suposiciones se corroboraron con la prueba de Kuskal – Wallis,  $p=0.012$  y prueba de Mann-Whitney,  $p=0.574$ .



Figura 53. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las semividas de distribución de enrofloxacin (calculadas por ADAPT II), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).



#### **V.7.2.6. Microconstantes de Intercambio de la enrofloxacin entre los compartimientos**

No existen diferencias significativas entre las velocidades de intercambio entre el compartimiento central y los segundos compartimientos, superficial en el caso de la vía intravenosa, y profundos para las vías extravasculares (Fig. 54 y Tablas LXV del anexo).

Existieron diferencias estadísticamente significativas entre la velocidad de intercambio entre el compartimientos central y el periférico superficial, y entre éste y el periférico profundo, para la vía intravenosa (Fig. 55 y Tablas LXVI del anexo).

Figura 54. Gráficos de caja de la relación entre las microconstantes de intercambio entre los compartimientos central y periférico de enrofloxacin (calculadas por ADAPT II), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

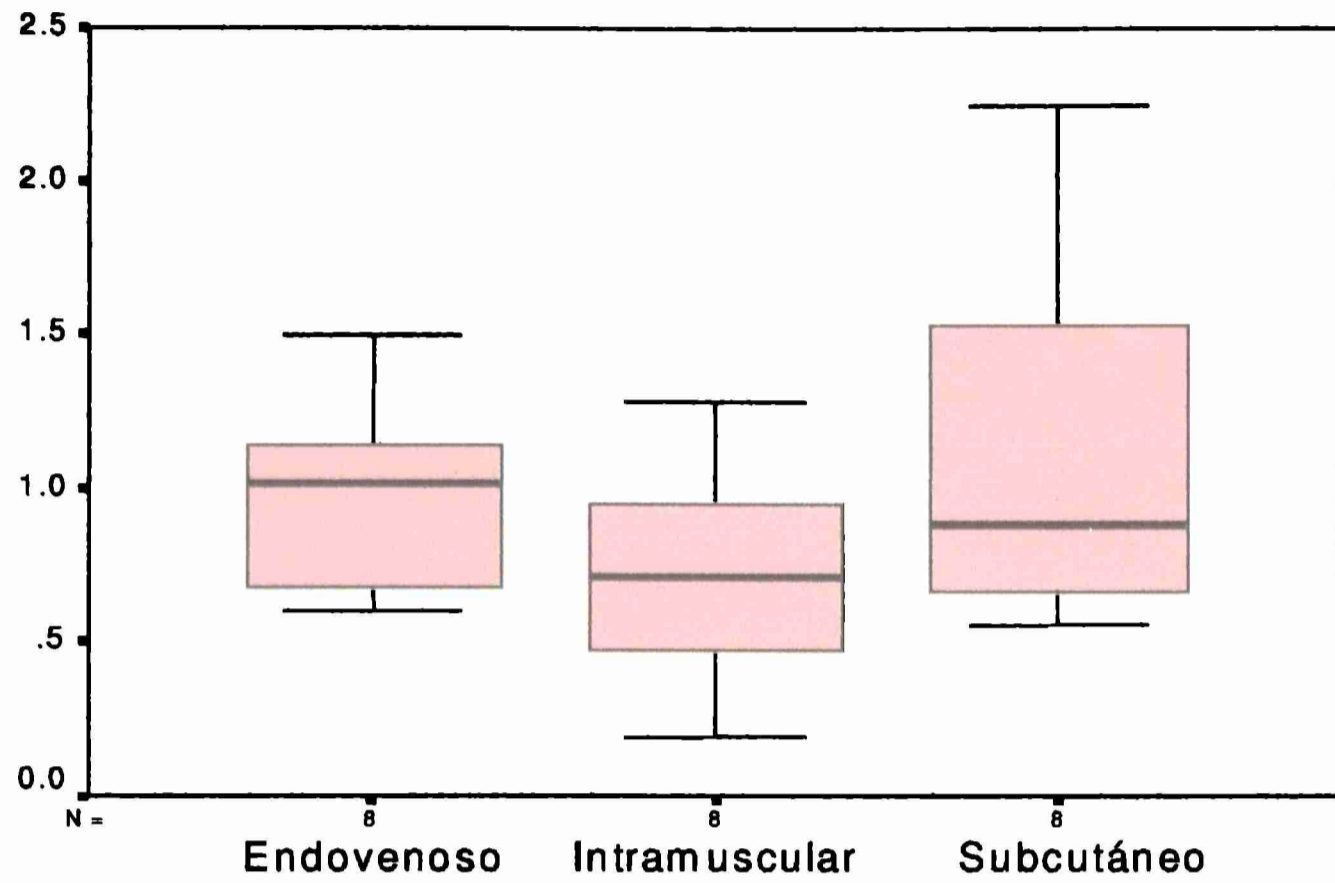
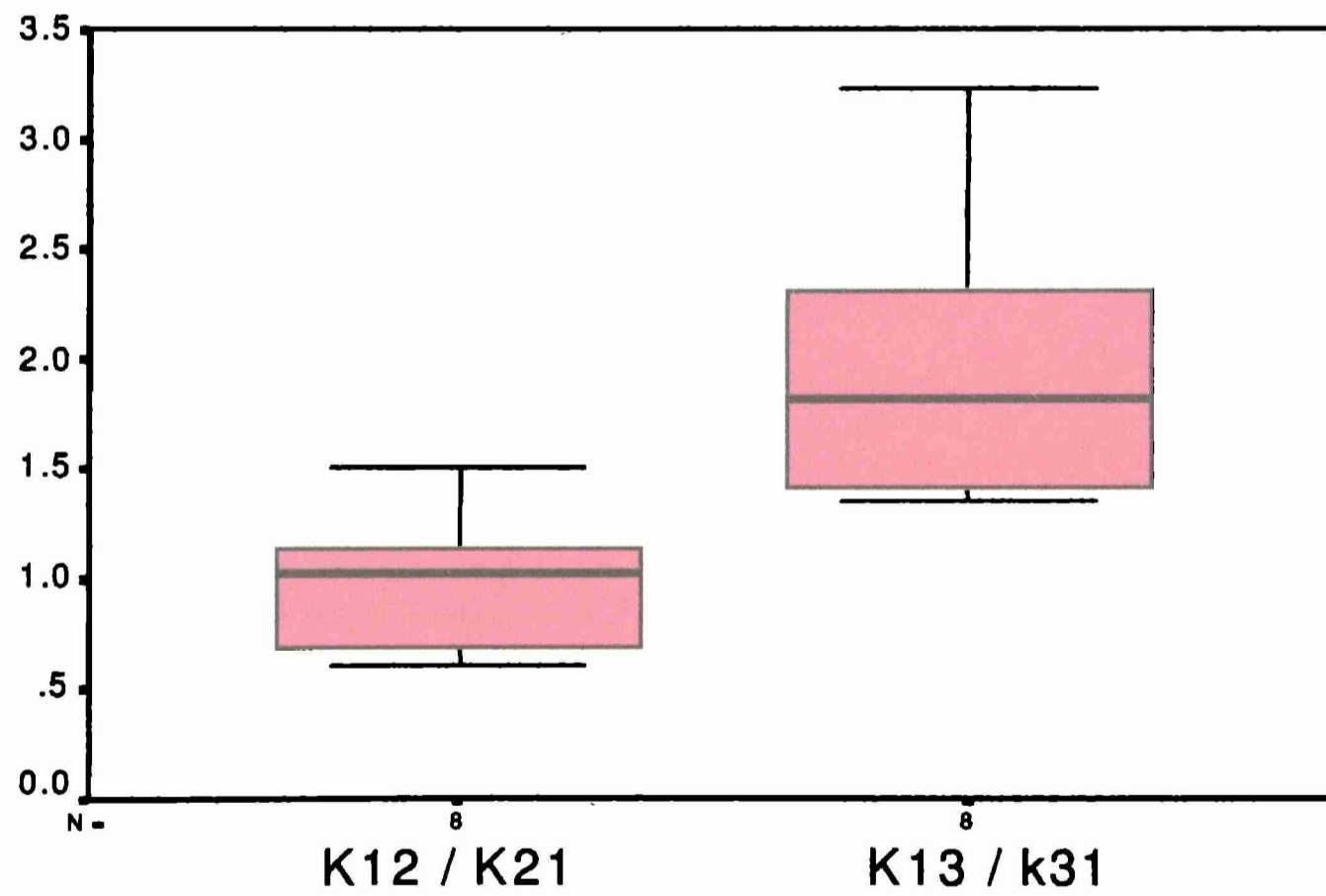


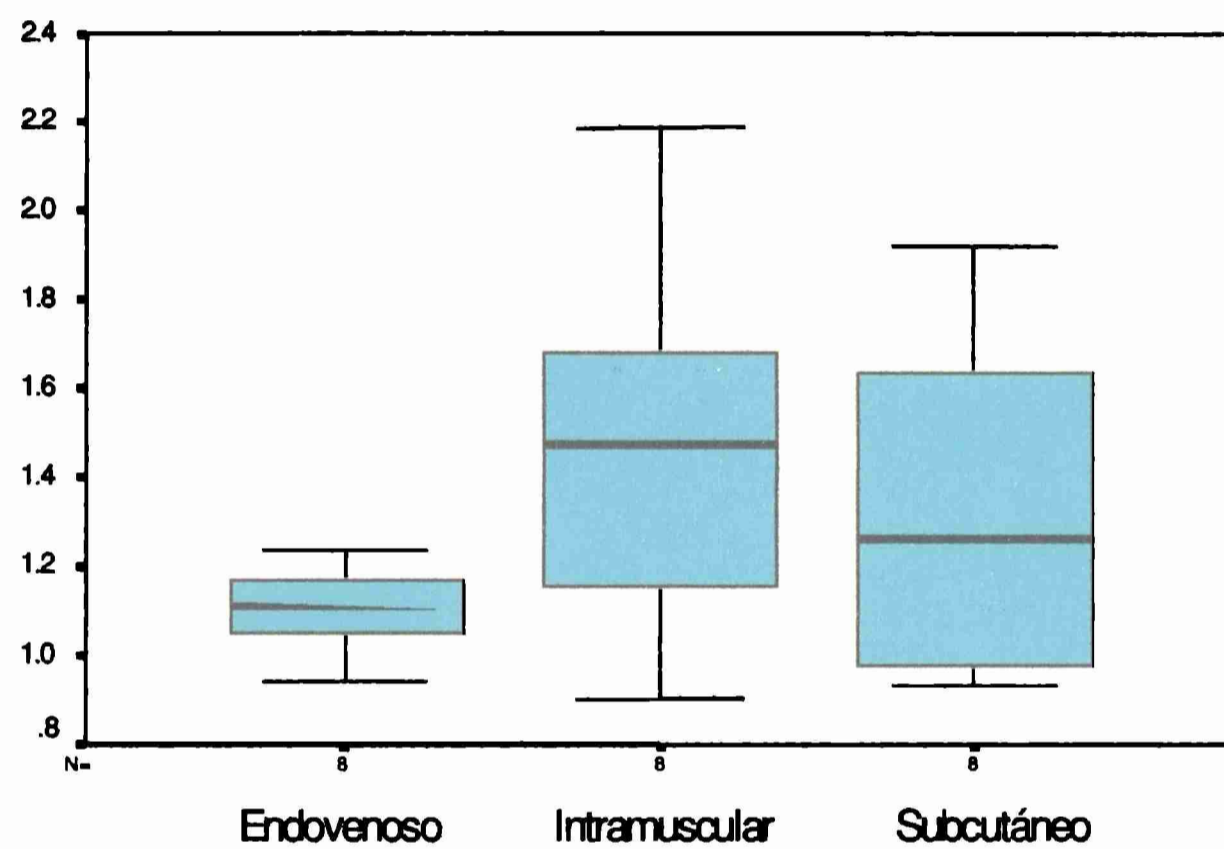
Figura 55. Gráficos de caja de la relación entre las microconstantes de intercambio entre los compartimientos central y periférico superficial, y entre éste y el periférico profundo, de enrofloxacin (calculadas por ADAPT II), luego de la administración intravenosa (salida de SPSS).



### V.7.2.7. Volumen de distribución de la enrofloxacin

No se encontraron evidencias de diferencias estadísticamente significativas entre los volúmenes de distribución medio según la vía de administración, prueba de K-W,  $p = 0.241$  (Fig 56 y Tabla LXVII del anexo)

Figura 56. Gráficos de caja de la distribución de los valores de los volúmenes de distribución de la enrofloxacin (calculados por ADAPT II), luego de la administración intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).



En esta figura se observa que la distribución de los volúmenes de distribución son muy poco variables para la vía endovenosa que para las otras vías. Si se ordena según variabilidad de menor a mayor, el ranking sería, endovenoso, subcutáneo, intramuscular. Al haber superposición total de las cajas, no se van a detectar diferencias estadísticamente significativas entre los volúmenes de distribución, a pesar del comportamiento no semejante observado en la figura.

#### V.7.2.8. Semivida de eliminación de la enrofloxacin

Se analizaron las diferencias que pudieran existir para los valores de semivida de eliminación entre las distintas vías de administración de la droga, y entre los valores calculados por distintos métodos de análisis cinéticos, con los siguientes resultados. No existieron diferencias significativas entre los valores de las semividas de eliminación entre las tres vías de administración, intravenosa, intramuscular y subcutánea, por ninguno de los métodos cinéticos empleados (tablas LXVIII, LXIX y LXX del anexo). Sin embargo, cuando se observan los gráficos de caja (Fig. 57, 58 y 59) que muestran la distribución de los valores de semividas de eliminación calculados para las tres vías y por los tres métodos, se puede apreciar una gran similitud en la distribución de los valores calculados por fórmulas clásicas, y menos semejanza cuando se usó regresión lineal (CSTRIP) y regresión no lineal (ADAPT II), con una clara diferencia en la pauta de distribución para la vía intravenosa. En este último caso, al superponerse las cajas, la prueba de Kruskal–Wallis no detecta diferencias estadísticamente significativas entre las semividas de eliminación medias ( $p = 0.243$ ) aunque el comportamiento en general de las tres vías podría decirse que no es similar. Como se discutirá más adelante, este hecho puede explicarse por el tipo de modelo cinético utilizado en el caso de la vía intravenosa.

Figura 57. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las semividas de eliminación de enrofloxacin (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

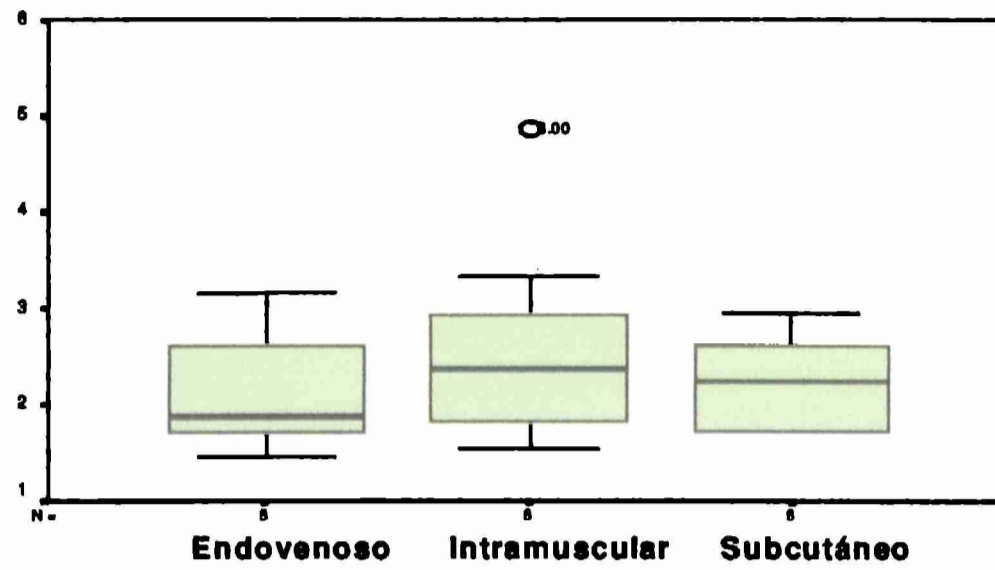


Figura 58. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las semividas de eliminación de enrofloxacin (calculadas por CSTRIP), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

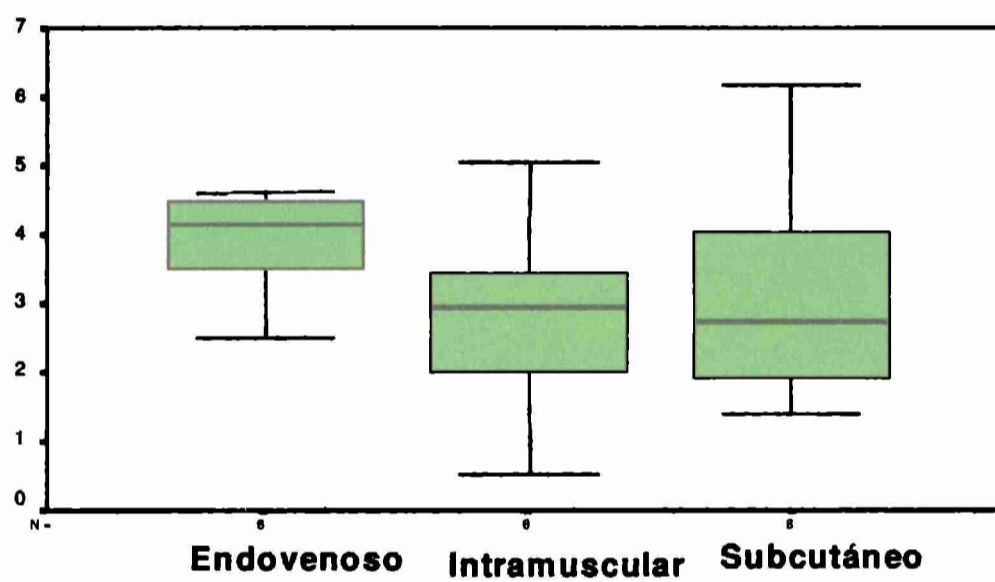
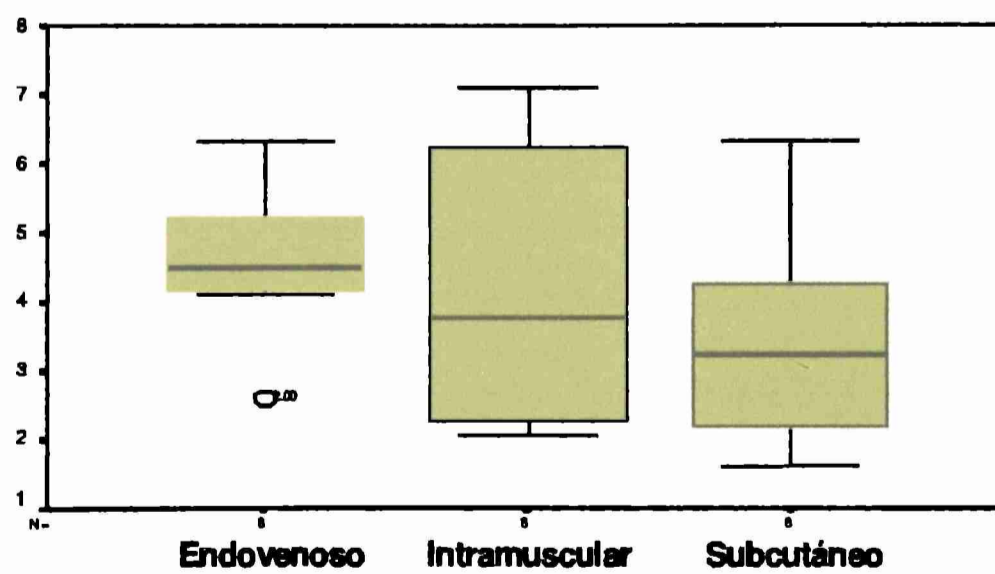


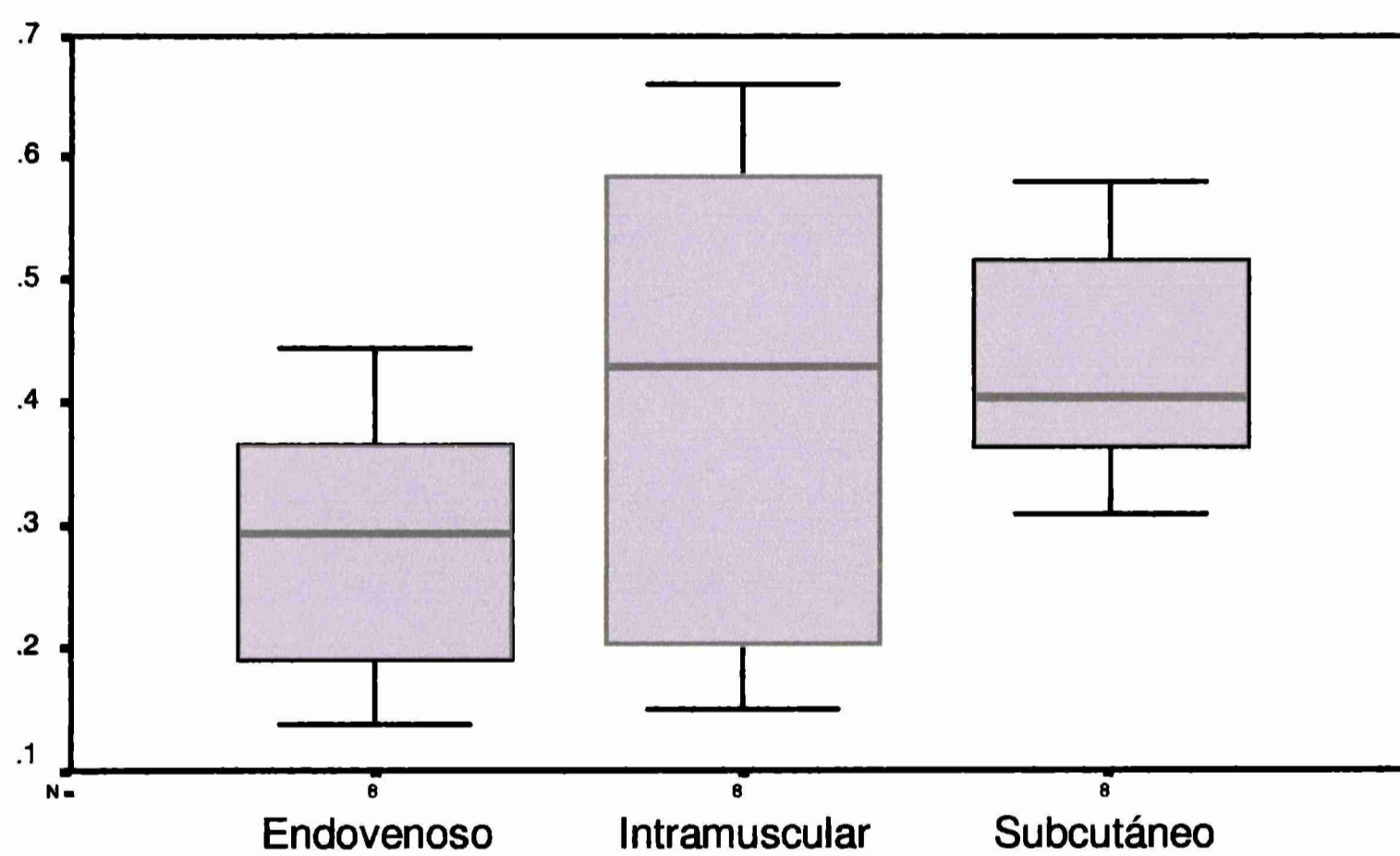
Figura 59. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las semividas de eliminación de enrofloxacin (calculadas por ADAPT II), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).



### V.7.2.9. Aclaramiento plasmático de la enrofloxacin

No se observaron diferencias significativas entre los valores de aclaramientos plasmático para las tres vías de administración cuando se usó la prueba de comparación de Kruskal-Wallis (Fig 60 y Tabla LXXI del anexo). Sin embargo, cuando se compararon los valores correspondientes a las vías intravenosa y subcutánea, la prueba de Mann-Whitney arrojó diferencias. Esta misma prueba no mostró diferencias significativas entre las vías intravenosa e intramuscular, ni entre las vías intramuscular y subcutánea (Tablas LXXII, LXXIII y LXXIV del anexo).

Figura 60. Gráficos de caja de la distribución de los valores correspondientes al aclaramiento plasmático de la enrofloxacin (calculados por ADAPT II), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).



### **V.7.3. Comparaciones entre parámetros farmacocinéticos correspondientes a las distintas vías de administración de la ciprofloxacina**

#### **V.7.3.1. Concentraciones plasmáticas máximas ( $C_{max}$ ) de la ciprofloxacina**

Al comparar, mediante la prueba de Kruskal–Wallis, la  $C_{max}$  para las diferentes vías de administración, no se encontró evidencias de diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ ), si bien del gráfico se desprende que la  $C_{max}$  alcanzada luego de la administración de la enrofloxacin por vía endovenosa fue mayor a las obtenidas por las vías intramuscular y subcutánea. Cuando se comparó mediante la prueba de Mann-Whitney, se encontró una diferencias significativa entre las concentraciones máximas de ciprofloxacina luego de la administraciones intravascular y subcutáneo, y una diferencia cercana a lo significativo entre las vías i.v. e i.m. Sin embargo, la misma prueba corroboró lo observado gráficamente entre las  $C_{max}$  de las vías subcutánea e intramuscular, en cuanto a que la dispersión de los valores y sus promedios fueron prácticamente idénticos ( $p = 0.878$ ). Podemos concluir que las  $C_{max}$  obtenidas luego de la administración intravenosa son notablemente mayores que las  $C_{max}$  alcanzadas luego de la administración intramuscular y subcutánea, aún cuando la prueba estadística que compara las tres vías dé resultados no significativos (Fig 61 y Tablas LXXV, LXXVI, LXXVII y LXXVIII del anexo).

#### **V.7.3.2. Tiempo al que se alcanza la $C_{max}$ ( $T_{max}$ ) de la ciprofloxacina**

No existieron diferencias significativas entre los valores  $T_{max}$  para la ciprofloxacina luego de la administración de enrofloxacin por las vías intra y extravasculares (Tabla LXXIX del anexo ). Sin embargo, el gráfico de caja (Fig 62) muestra que los valores de  $T_{max}$  para la vía intramuscular son algo mayores.



Figura 61. Gráfico de caja de la distribución de las concentraciones máximas de ciprofloxacina en plasma luego de la inyección de enrofloxacin por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea (salida de SPSS).

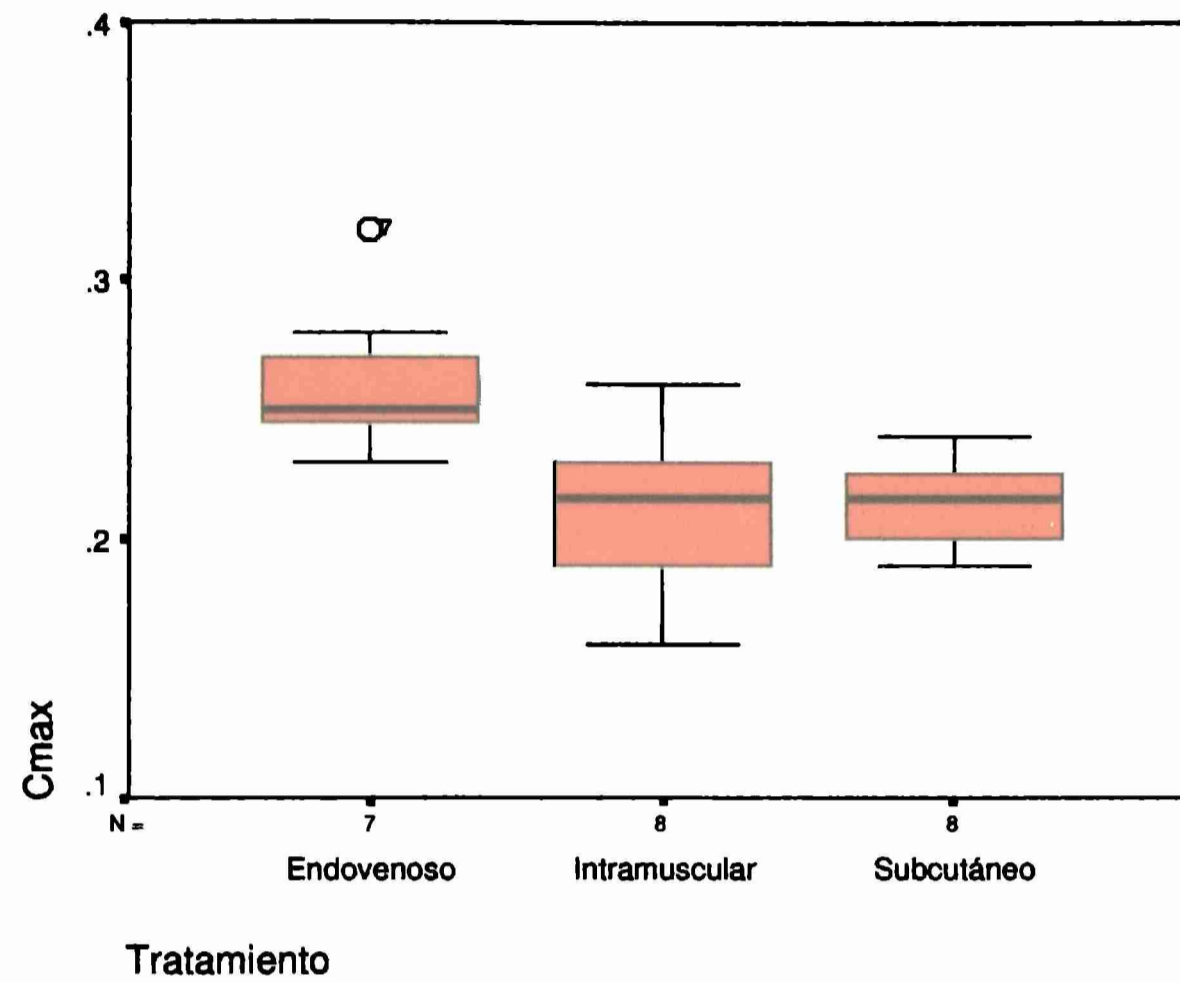
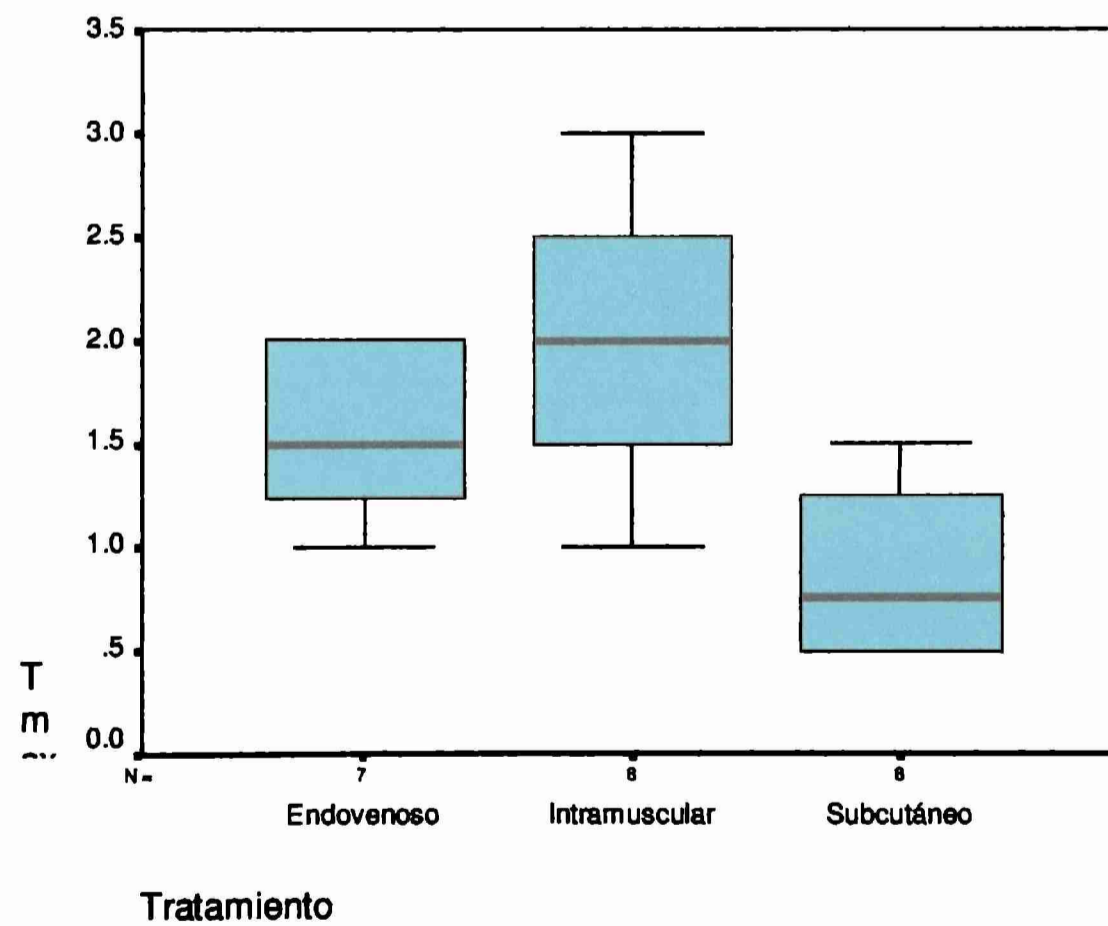


Figura 62. Gráfico de caja de la distribución de los tiempos a los cuales se alcanzaron las concentraciones máximas de ciprofloxacina en plasma luego de la inyección de enrofloxacin por las vías intramuscular y subcutánea (salida de SPSS).



**V.7.3.3. Area bajo la curva de concentración de ciprofloxacina desde el tiempo cero al tiempo de la última determinación ( $ABC_{0-t}$ ) y a infinito ( $ABC_{0-\infty}$ ), luego de la administración de enrofloxacin por todas las vías**

Existe una diferencia significativa entre las  $ABC_{tiempo}$  entre las tres vías de administración cuando se comparan con el test de Kruskal-Wallis. Cuando se compararon todas las vías de administración entre sí (test de Mann-Whitney) quedó claro que las diferencias significativas son entre las  $ABC_t$  de la ciprofloxacina luego de la administración subcutánea de enrofloxacin con respecto a  $ABC_t$  de esta droga cuando la droga madre se administró por vía intravenosa e intramuscular. Sin embargo, no hubieron diferencias significativas entre las  $ABC_{infinito}$  de ciprofloxacina para las tres vías de administración de enrofloxacin. (Tablas LXXX a LXXXIV del anexo y Fig 63 y 64).

Figura 63. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacina, de cero a tiempo, luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente, de enrofloxacina (salida de SPSS).

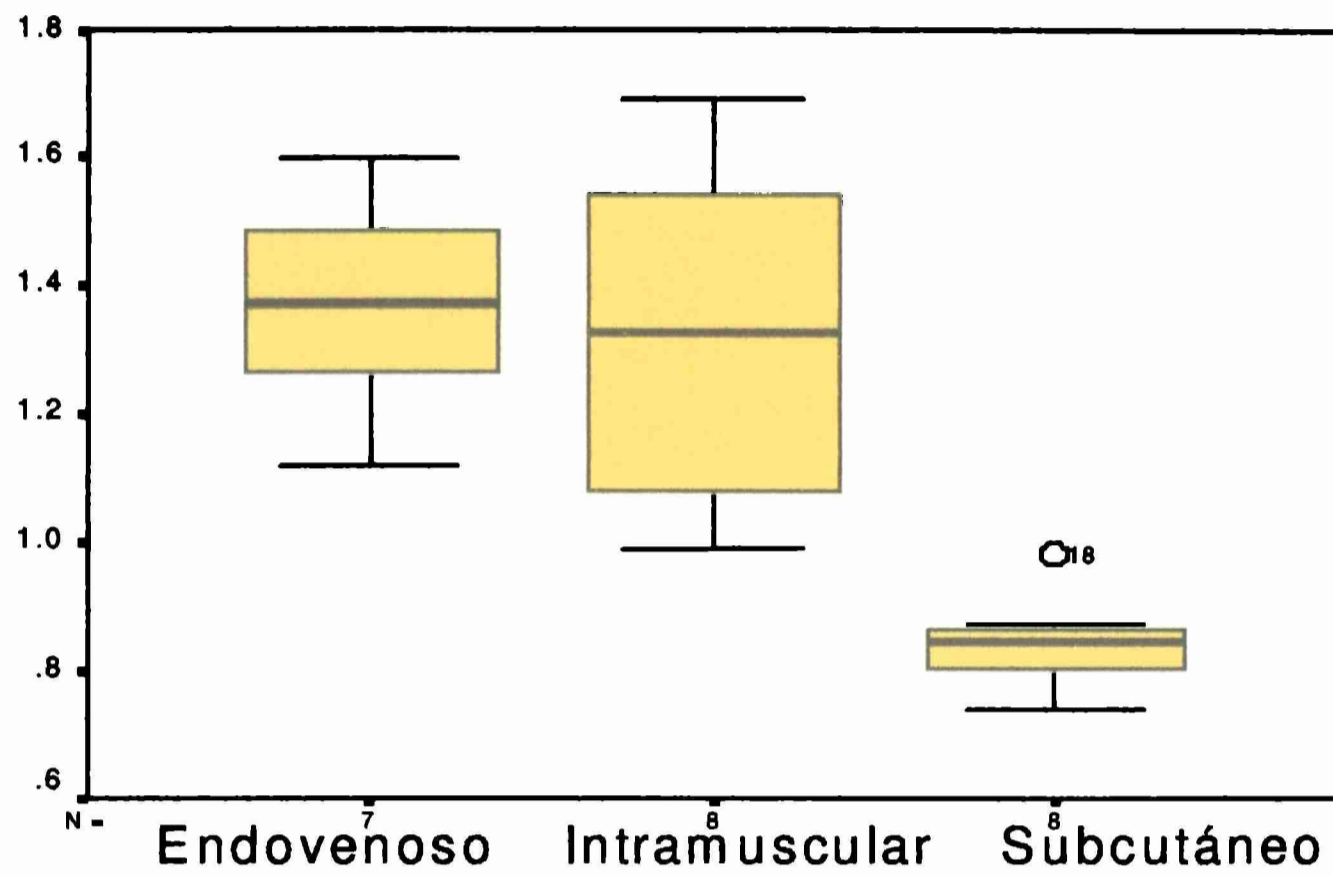
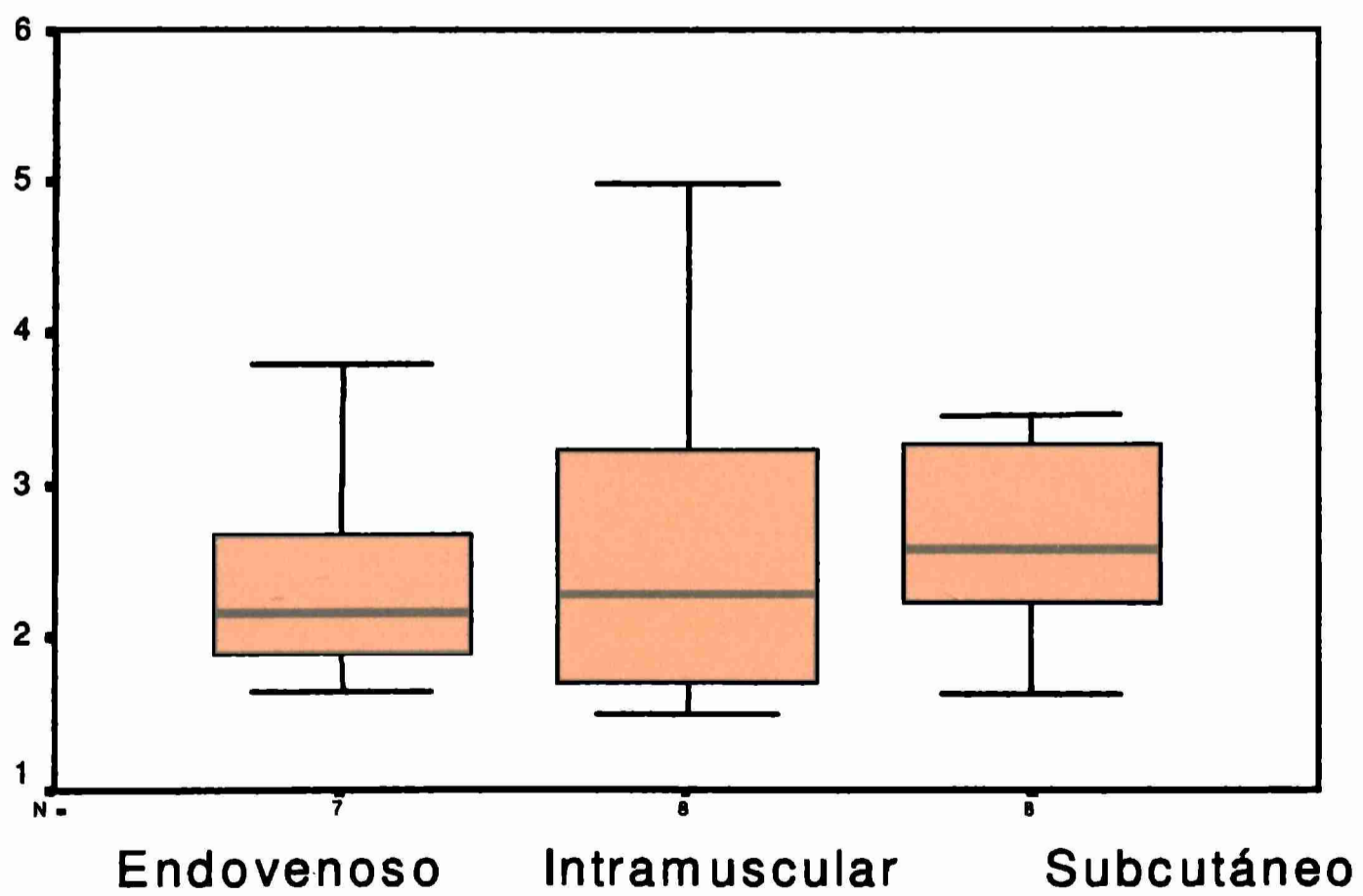


Figura 64. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacina, de cero a infinito, luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente, de enrofloxacina (salida de SPSS).



#### **V.7.3.4. Constante de eliminación de la ciprofloxacina**

No se encontraron diferencias significativas entre los valores de constante de eliminación para la ciprofloxacina luego de la administración de enrofloxacin por las vías intra y extravasculares (Fig 65 y Tabla LXXXV del anexo).

#### **V.7.3.5. Semivida de eliminación de la ciprofloxacina**

No existieron diferencias significativas entre los valores de las semividas de eliminación del metabolito ciprofloxacina luego de la administración de enrofloxacin por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea (Fig 66 y Tabla LXXXVI del anexo).

Figura 65. Gráficos de caja de la distribución de los valores de constantes de eliminación de enrofloxacin (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

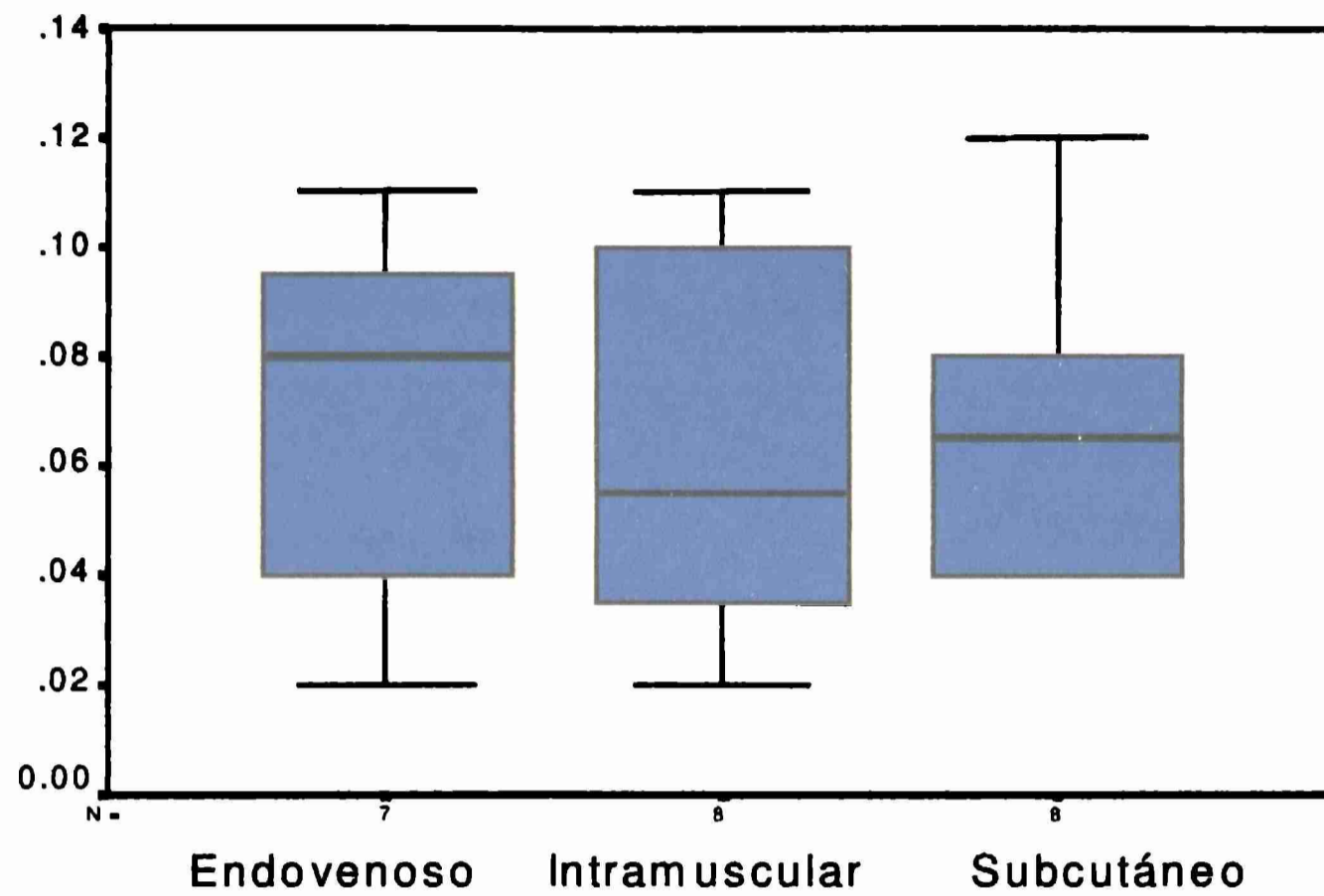
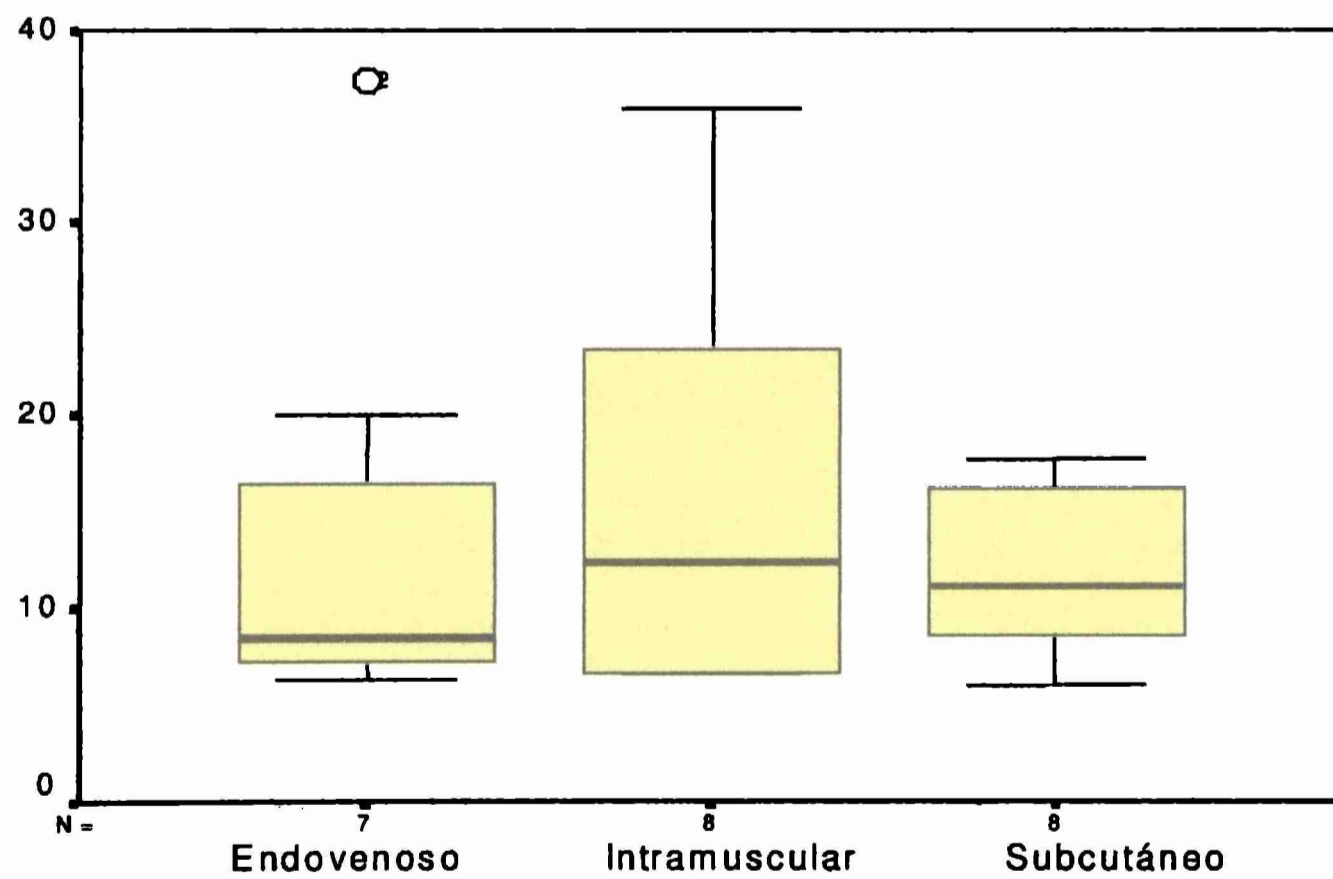


Figura 66. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las semividas de eliminación de ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente, de enrofloxacin (salida de SPSS).



**V.7.4. Comparaciones entre parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin y su metabolito ciprofloxacina**

**V.7.4.1. Comparación entre constante de eliminación y semividas de eliminación.**

Se observaron diferencias significativas entre los valores de tasa de constante de eliminación y semividas de eliminación correspondientes a enrofloxacin y ciprofloxacina, luego de la administración intravenosa de enrofloxacin (Fig, 67 a 72, y Tablas LXXXVII a XCII del anexo)

Figura 67. Gráficos de caja de la distribución de los valores de tasa de constante de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intravenosa de enrofloxacin (salida de SPSS).

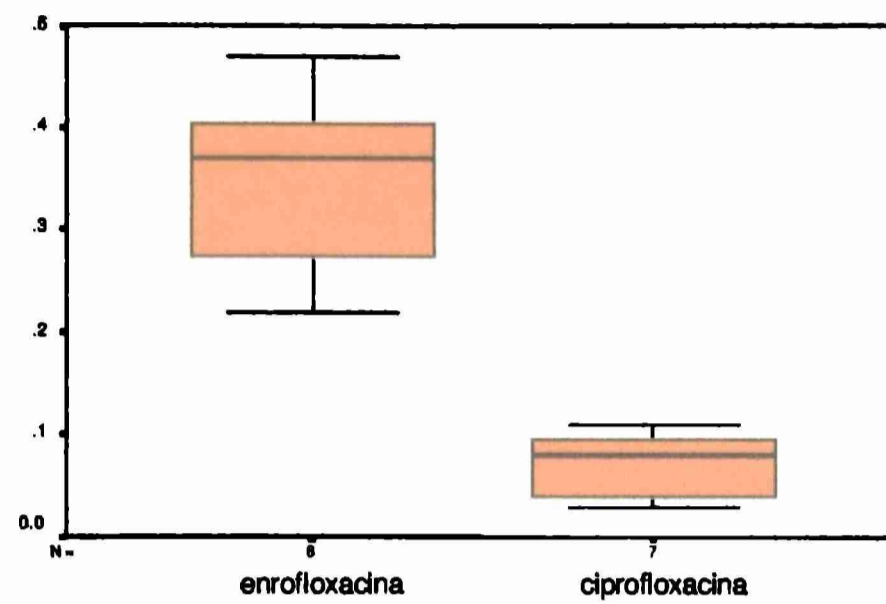


Figura 68. Gráficos de caja de la distribución de los valores de tasa de constante de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intramuscular de enrofloxacin (salida de SPSS).

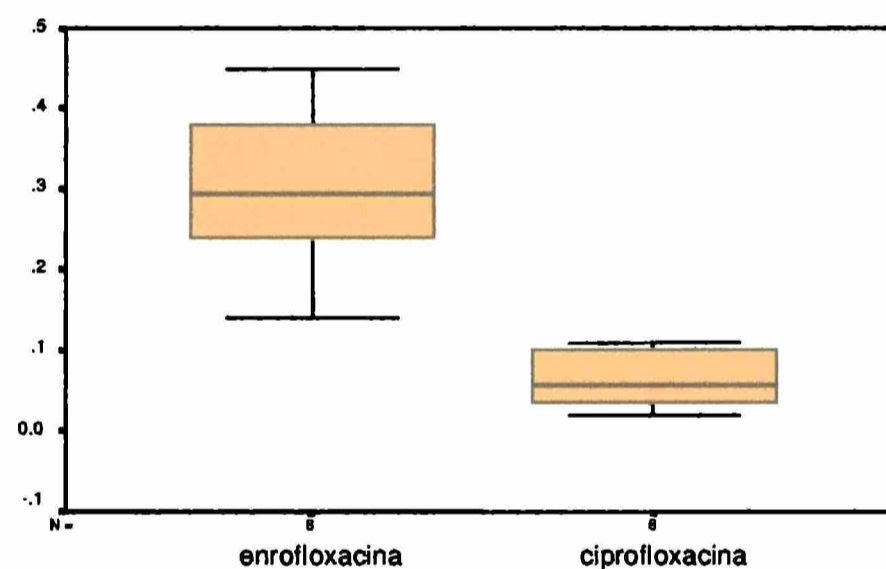


Figura 69. Gráficos de caja de la distribución de los valores de tasa de constante de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración subcutánea de enrofloxacin (salida de SPSS).

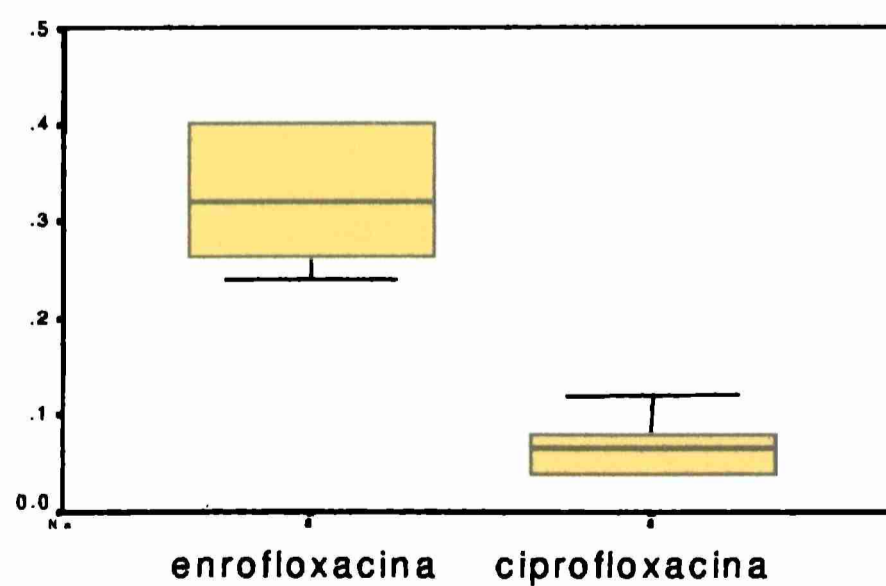


Figura 70. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las semividas de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intravenosa de enrofloxacin (salida de SPSS).

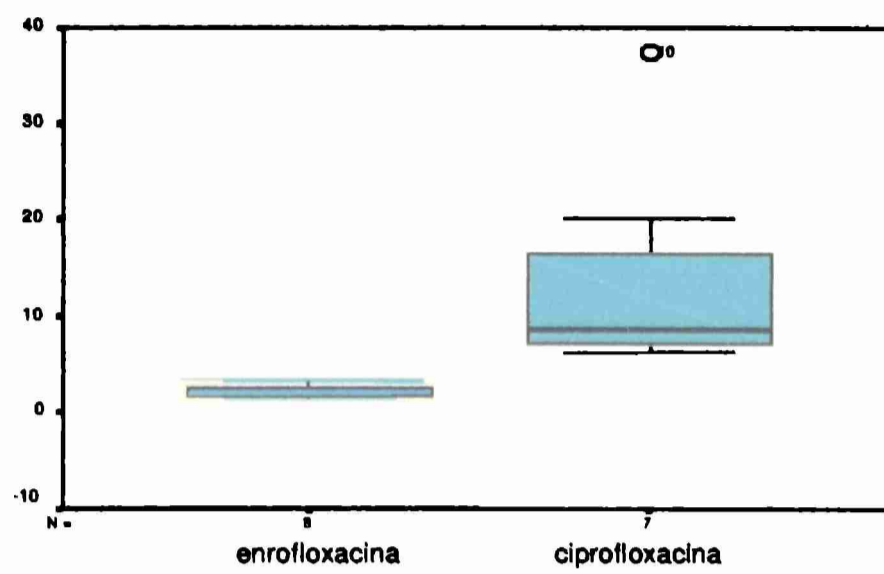


Figura 71. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las semividas de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intramuscular de enrofloxacin (salida de SPSS).

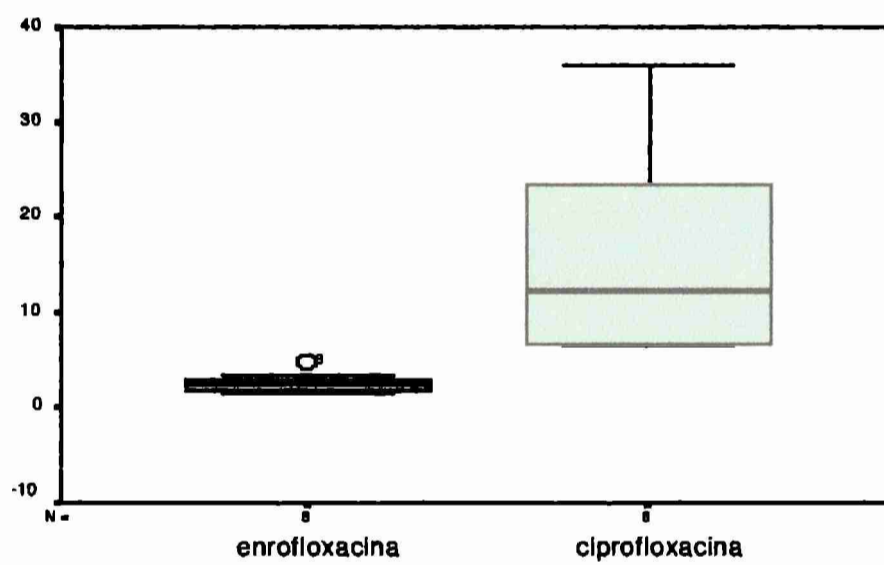
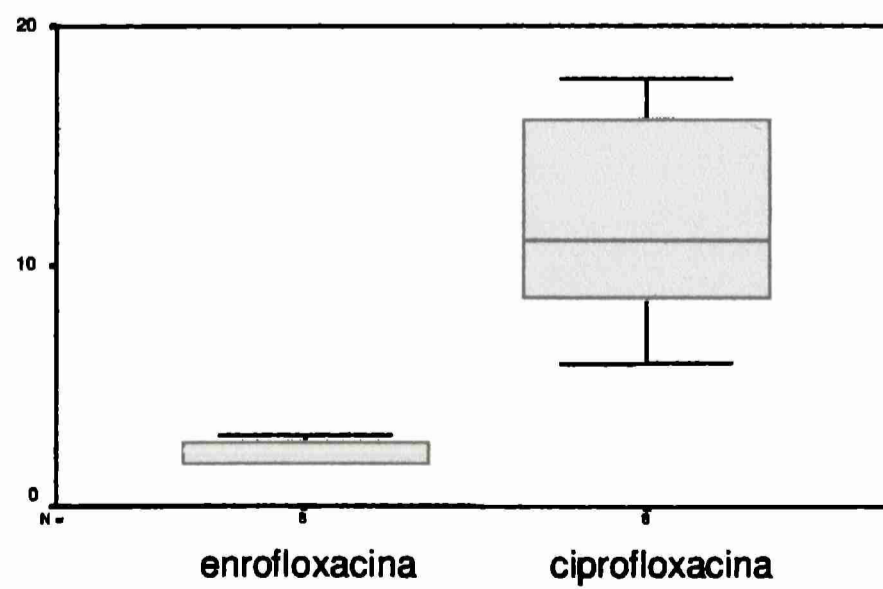


Figura 72. Gráficos de caja de la distribución de los valores de las semividas de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración subcutánea de enrofloxacin (salida de SPSS).





### V.7.5. Comparaciones entre métodos de análisis farmacocinético para la enrofloxacin

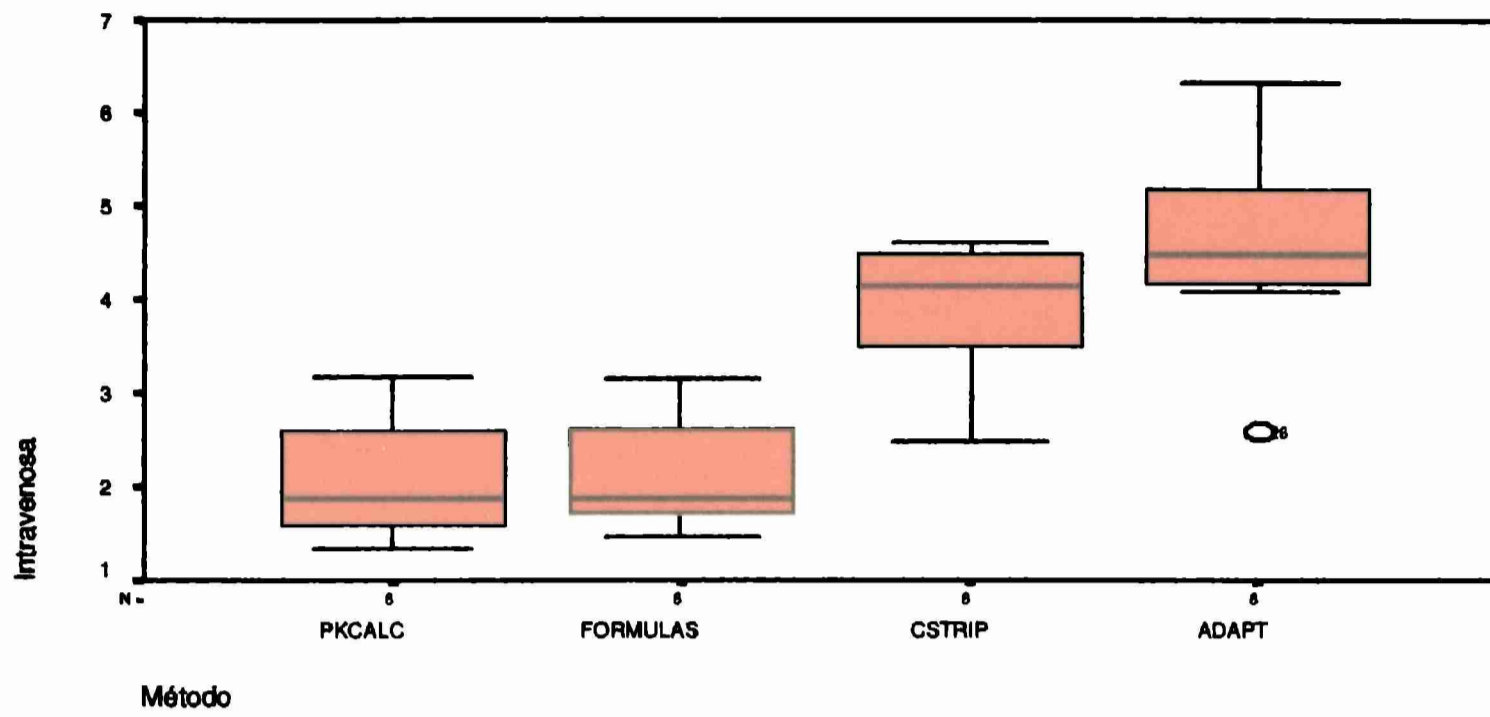
Se compararon los valores de semivida de eliminación para las tres vías de administración, por diferentes métodos de análisis cinético, a fin de averiguar si hay diferencias significativas cuando un mismo parámetro es calculado por distintos métodos.

Los métodos comparados fueron: fórmulas clásicas, programa PKCAL (ambos utilizan análisis no compartimental basados en la teoría de los momentos estadísticos), programa CSTRIP (regresión lineal), y el programa ADAPT II (regresión no lineal). Tomamos el parámetro semivida de eliminación como modelo por ser uno de los parámetros más representativos del comportamiento farmacocinético de una droga, y necesario para establecer regímenes de dosificación. Además es uno de los pocos parámetros que pueden ser calculados por los cuatro métodos.

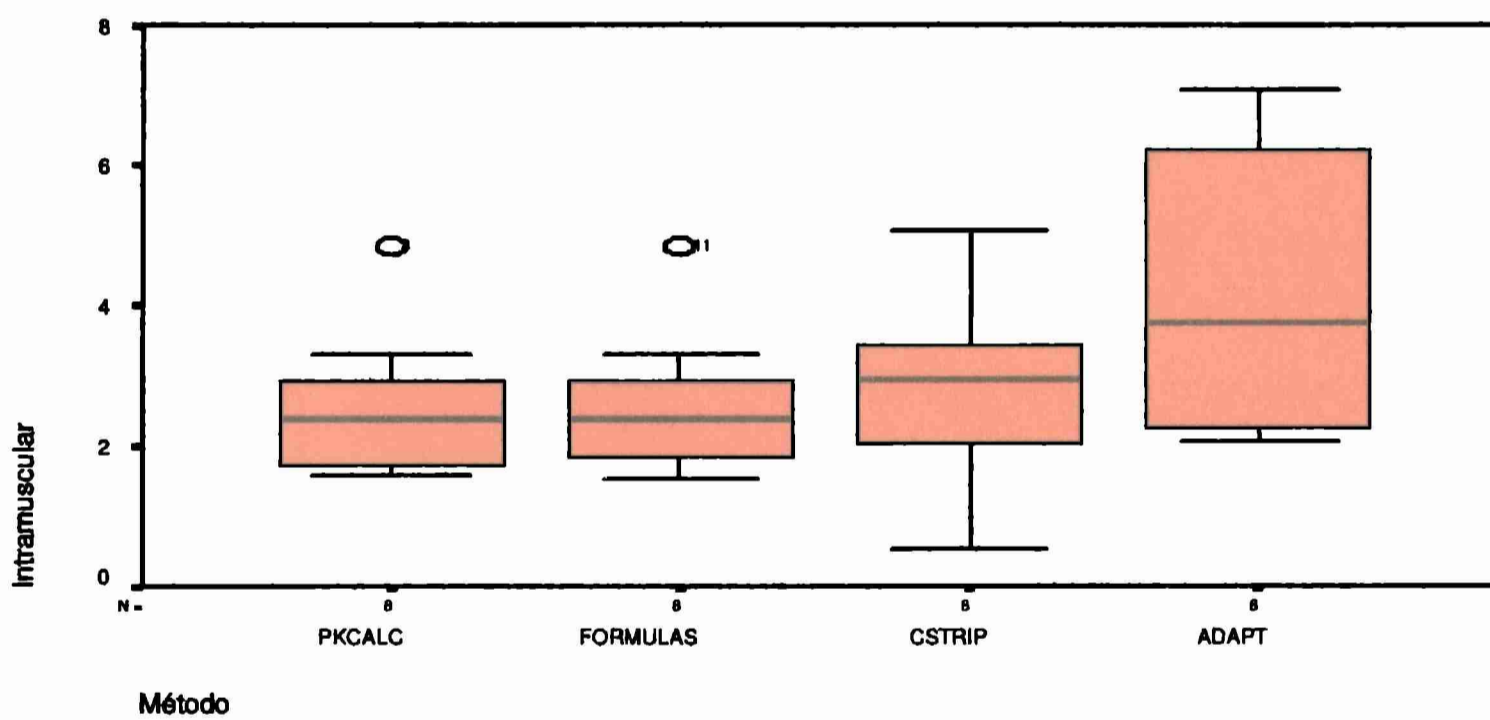
Cuando se compararon todos los métodos juntos (prueba de Kruskal-Wallis) las diferencias entre los valores de semivida de eliminación calculados por distintos métodos fueron significativas para la vía intravenosa. No existieron diferencias significativas entre los valores de semivida de eliminación calculados por los cuatro métodos para las vías extravasculares (Fig. 73 y Tabla XCIII del anexo).

Figura 73. Graficos de caja que muestran la distribución de los valores de las semividas de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intravenosa, intramuscular y subcutánea, calculados por distintos métodos clínicos (programa PKCALC, fórmulas clásicas, programa CSTRIP y programa ADAPT II)

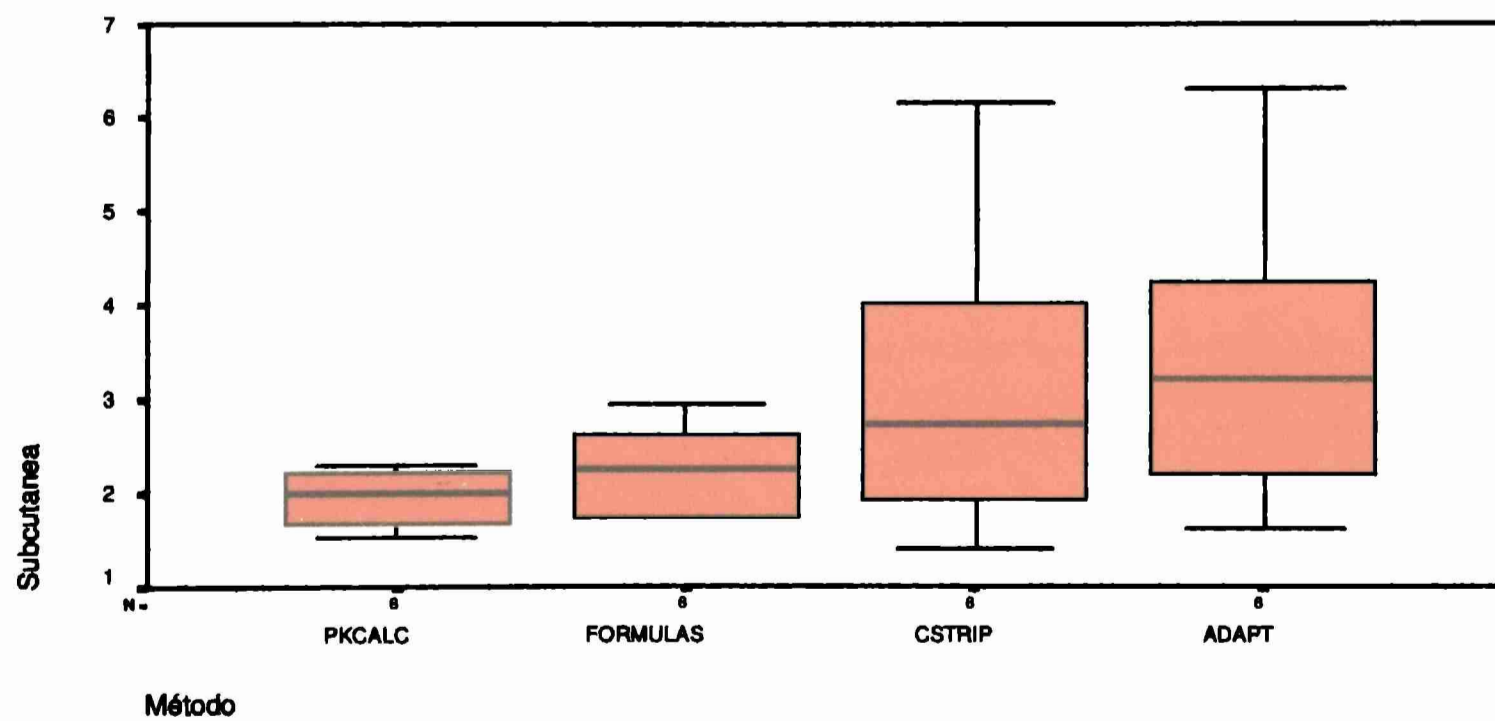
Intravenosa



Intramuscular



Subcutanea



A partir de estos resultados, comparamos todos los métodos entre sí, y para las tres vías de administración, a fin de averiguar cuáles eran los métodos que arrojaban resultados con mayores diferencias. Quedó claramente demostrado que las máximas diferencias, aún aquellas que no son estadísticamente significativas, se dan entre los resultados obtenidos por cálculo no compartimental y aquellos calculados por regresión no lineal (Tablas XCIV a XCVI del anexo). En las tablas 72, 73 y 74 mostramos los niveles de significancia dados por la prueba estadística de Mann-Whitney, para las distintas vías.

Tabla 72. Niveles de significancia estadísticas (p) dados por la prueba estadística de Mann-Whitney, para la diferencias entre los valores de semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada la vía intravenosa, calculados por distintos métodos de análisis cinéticos. (nivel de significancia  $p < 0.05$ )

	Fórmulas	PKCALK	CSTRIP	ADAPT II
Fórmulas		0.959	0.000	0.01
PKCALK			0.000	0.000
CSTRIP				0.161
ADAPT II				

Tabla 73. Niveles de significancia estadísticas (p) dados por la prueba estadística de Mann-Whitney, para la diferencias entre los valores de semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada la vía intramuscular, calculados por distintos métodos de análisis cinéticos. (nivel de significancia  $p < 0.05$ )

	Fórmulas	PKCALK	CSTRIP	ADAPT II
Fórmulas		0.959	0.456	0.083
PKCALK			0.589	0.003
CSTRIP				0.279
ADAPT II				

Tabla 74. Niveles de significancia estadísticas (p) dados por la prueba estadística de Mann-Whitney, para la diferencias entre los valores de semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada la vía subcutánea, calculados por distintos métodos de análisis cinéticos. (nivel de significancia  $p < 0.05$ )

	Fórmulas	PKCALK	CSTRIP	ADAPT II
Fórmulas		0.279	0.214	0.105
PKCALK			0.017	0.000
CSTRIP				0.645
ADAPT II				

## VI. Discusión

## VI. Discusión

### VI.1. Del método analítico:

La utilización de la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) en la determinación de enrofloxacin y ciprofloxacina en plasma y tejidos está justificada por varias razones. En primer lugar, el método HPLC viene siendo ampliamente utilizado para la determinación y cuantificación de fluoroquinolonas en muestras biológicas con muy buenos resultados en cuanto a rapidez, sensibilidad, especificidad y versatilidad, y permite la determinación de varios compuestos a la vez (Tyczkowska y col.,1994; Horie y col.,1994; Anadón y col.,1995a; Rose y col.,1998, Knoll y col.,1999; Manceau y col.,1999). Por otra parte, tiene una clara ventaja frente a los métodos biológicos cuando se analizan drogas antimicrobianas con metabolitos activos. Si un agente antimicrobiano es metabolizado a productos que tienen actividad antimicrobiana y propiedades farmacocinéticas diferentes de la sustancia original, tal como es el caso de la enrofloxacin, los métodos microbiológicos permiten sólo una aproximación a la interpretación de la disposición de la droga, debido a que los parámetros farmacocinéticos de la droga madre y de los metabolitos no pueden ser evaluadas separadamente (Küng y col., 1993). Es decir, las curvas de disposición plasmática luego de la administración de enrofloxacin serán, en el caso de medición de concentraciones por metodología biológica, el resultado de la suma de las concentraciones de enrofloxacin más ciprofloxacina. Algo diferente a la cuantificación de enrofloxacin y ciprofloxacina por separado, como se obtiene por HPLC.

Existen varias razones para preferir el método HPLC antes que el método biológico. Si se comparan las áreas bajo la curva de concentración-tiempo (ABC) luego de la administración de enrofloxacin, hay una tendencia hacia valores mayores en los ensayos biológicos con respecto a la suma de los valores de enrofloxacin y ciprofloxacina determinados por HPLC. Estos resultados pueden explicarse por la diferente actividad antimicrobiana de la enrofloxacin y la ciprofloxacina. Las CIM de la ciprofloxacina para varios microorganismos son menores que las de la enrofloxacin (Giguère y col., 1996). Al ser una de las drogas más activa que las otras, la suma de sus actividades (halos de inhibición), resulta ligeramente diferente a la suma de sus concentraciones. Sin embargo, esto no puede ser completamente explicado por la presencia del metabolito activo ciprofloxacina, ya

que la adición de las concentraciones de enrofloxacin y ciprofloxacina (determinadas por HPLC) en un mismo animal producen picos de concentraciones plasmáticas y áreas bajo la curva menores a los determinados por ensayo microbiológico. Esto puede explicar en parte las discrepancias en los datos farmacocinéticos de la enrofloxacin entre autores que utilizaron el método microbiológico y el cromatográfico, respectivamente (Küng y col., 1993). Otros autores (McKellar y col., 1997) coinciden en que las concentraciones de enrofloxacin determinadas por HPLC fueron menores que las equivalentes determinadas por métodos microbiológicos. En la Tabla 75 se presenta una comparación entre los parámetros farmacocinéticos obtenidos luego del análisis de concentraciones medidas por método biológico y por HPLC. Como dato muy interesante, se puede observar que para  $T_{max}$ , el método microbiológico (que mide enrofloxacin + ciprofloxacina) dio un valor intermedio entre las  $T_{max}$  de ambas drogas por separado, lo que es fácil de interpretar. Por otra parte, para  $C_{max}$  y ABC los valores obtenidos por método microbiológico son mayores a la suma de las  $C_{max}$  y ABCs de ambos productos por separado, lo que fundamentamos, como se dijo antes, en las ligeramente diferentes potencias de ambos compuestos. En el caso de los valores obtenidos luego de la medición de concentraciones en cajas titulares, los parámetros, nuevamente, se pueden interpretar como en el caso anterior.

Tabla 75. Parámetros farmacocinéticos de enrofloxacin en terneros determinados por Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC), y por métodos microbiológicos, respectivamente. (tomado de McKellar y col., 1997)

	Enrofloxacin (HPLC)	Ciprofloxacina (HPLC)	Enrofloxacin + ciprofloxacina (mét. microbiológico)
<b>Plasma</b>			
$T_{max}$ (h)	1.75 ± 1.04	3.25 ± 1.04	2.25 ± 1.17
$C_{max}$ (µg/ml)	0.24 ± 0.08	0.11 ± 0.03	0.49 ± 0.17
$ABC_{last}$ (µg/ml.h)	1.40 ± 0.25	1.36 ± 0.47	3.12 ± 0.98
<b>Fluido de cajas tisulares</b>			
$T_{max}$ (h)	2.94 ±	5.25 ± 1.83	4.00 ± 2.31
$C_{max}$ (µg/ml)	0.18 ±	0.10 ± 0.04	0.34 ± 0.09
$ABC_{last}$ (µg/ml.h)	1.48 ±	1.85 ± 0.93	4.06 ± 1.99

$T_{max}$ , tiempo en que se alcanza la máxima concentración;  $C_{max}$ , máxima concentración plasmática; ABC, área bajo la curva concentración vs. tiempo.

En nuestro trabajo se utilizó un método de cromatografía líquida de alto rendimiento en fase reversa (HPLC-RP) para la determinación simultánea de enrofloxacin y ciprofloxacina, tanto en plasma como en tejidos.

Para la detección y cuantificación de las concentraciones de enrofloxacin y ciprofloxacina en plasma se usó un método HPLC que consideramos muy satisfactorio, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las pruebas de validación. Se utilizó detección ultravioleta, obteniéndose buena sensibilidad y especificidad, sin interferencias de picos. La linealidad (entre 0.1 y 10 µg/ml), la reproducibilidad (variaciones menores al 8 y al 14 % para los ensayos intradía e interdía respectivamente) y el límite de cuantificación (0.05 y 0.1 µg/ml, para la ciprofloxacina y la enrofloxacin respectivamente), se consideran apropiados, teniendo en cuenta los niveles plasmáticos terapéuticos del fármaco (0.10-2.0 µg/ml).

Sin embargo, para la cuantificación de enrofloxacin y ciprofloxacina a partir de tejidos fue necesaria la utilización de un método más sensible, y particularmente más específico, ya que eran muchas las sustancias que interferían en el análisis cromatográfico con detección ultravioleta. Por eso se utilizó detección fluorescente, con lo cual se mejoró notablemente la sensibilidad del método en tejidos. Como en los cromatogramas continuaron apareciendo picos correspondientes a sustancias extrañas, fue necesario usar un apareador iónico para aumentar la especificidad y lograr picos cromatográficos sin interferencia, principalmente cuando se trató de muestras de hígado. De este modo fue posible separar claramente los picos cromatográficos correspondientes a la enrofloxacin y a la ciprofloxacina de los picos de otros componentes.

Los resultados obtenidos con la grasa fueron desalentadores, aún cuando se trabajó con soluciones templadas a fin de favorecer el manejo de las muestras. Finalmente, luego de comprobar al cromatógrafo una gran variabilidad entre las muestras, nos vimos obligados a no considerar a este tejido.

Para la validación del método utilizado en tejidos se consideraron los niveles de Límites Máximos de Residuos (LMR) exigidos por el Committee for Veterinary Medicinal Products, perteneciente a The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA, 2002). Los valores son de 100 µg/kg en músculo, 200 µg/kg en riñón, y 300 µg/kg en hígado para la suma de enrofloxacin y ciprofloxacina. Así, se estableció un límite de cuantificación de 50 µg/kg para cada una de las drogas, enrofloxacin y ciprofloxacina. La Food and Drug Administration (FDA, 2004) de los



Estados ha establecido un LMR de 0.3 ppm ( $\mu\text{g/g}$ ) de enrofloxacin en músculo de pollos y pavos, pero no ha establecido aún LMR para la enrofloxacin en músculos de rumiantes. Sí ha establecido una tolerancia de 0.1 ppm de ciprofloxacina-desetileno (residuo marcador) en hígado de bovinos.

## VI.2. De la extracción de las drogas desde el plasma y los tejidos

Se ensayaron varios métodos de extracción de las drogas a partir del plasma, tomando como base los trabajos publicados por Tyczkowska y col. (1989), Rogstad y col. (1991), Cabanes y col. (1992), Horie y col. (1994), Tyczkowska y col. (1994), Anadón y col. (1995a), Rose y col. (1998) y Manceau y col. (1999).

Ninguno de los métodos de extracción líquido-líquido ensayados permitió lograr una muestra suficientemente limpia, obteniéndose con todos ellos cromatogramas con interferencia de picos, con baja recuperabilidad, o con ambos defectos. Con los métodos de extracción de Cabanes y col. (1992) y Anadón y col. (1995a), en los cuales se utilizó diclorometano en condiciones neutras como solución de extracción, no fue posible separar los picos cromatográficos correspondientes a ambas drogas, y la recuperabilidad a partir del plasma fue muy baja. Se ensayó además con metanol, etanol, cloroformo, éter dietílico, hexano y acetonitrilo, solos o en combinación, sin obtener resultados satisfactorios. La utilización de sustancias básicas, como el acetonitrilo, permitió la obtención de picos cromatográficos más claros, pero con una alta pérdida de recuperabilidad. Con la utilización de alcoholes, cloroformo, éter dietílico o hexano, se obtuvieron picos cromatográficos poco despejados de las sustancias contaminantes, y con muy baja recuperabilidad.

Algunos autores reportaron la necesidad de utilizar soluciones de extracción con un valor de pH menor a 3, adicionando ácido metafosfórico (Horie y col., 1994; Knoll y col., 1999) o ácido acético (Intorre y col., 1997; Rose y col., 1998) al solvente orgánico, a fin de incrementar la recuperación.

Teniendo en cuenta estos resultados realizamos una primera extracción líquido-líquido con una mezcla de acetonitrilo y ácido tricloroacético, y una segunda extracción mediante separación en fase sólida (SFS), con lo cual se pudieron obtener picos cromatográficos de buena resolución y libres de interferencias. Para el ajuste de la metodología de extracción con SFS nos fue de mucha utilidad el trabajo de Manceau y col. (1999).

Con respecto a la extracción de la enrofloxacin y ciprofloxacina a partir de tejidos, debo destacar que la metodología es laboriosa y compleja. Fue necesario utilizar dispositivos especiales para lograr la correcta homogeneización de las muestras (homogeneizador UltraTurrax®), y ser extremadamente cuidadoso para evitar la contaminación entre muestras.

Las muestras de músculo, sitio de inyección, hígado y riñón pudieron ser correctamente analizadas, y la metodología empleada permitió una buena extracción de las drogas, sin contaminación entre las muestras.

### VI.3. De las condiciones cromatográficas

Los métodos HPLC para fluoroquinolonas utilizan habitualmente fases móviles que consisten en un solvente orgánico en solución acuosa. En nuestro trabajo, luego de ensayar varias mezclas y proporciones, se utilizó una fase móvil preparada en base a una mezcla de agua tridestilada y acetonitrilo en relación 87:13 para plasma y 82:18 para tejidos. Estas fases móviles permitieron tiempos de elución relativamente rápidos sin interferencia entre los picos de enrofloxacin y ciprofloxacina.

Coincidentemente con lo reportado por varios autores (Tyczkowska y col.1989; Anadón y col.1995a; Manceau y col.1999) la utilización de ácido fosfórico en la fase móvil aumentó significativamente la recuperabilidad. Esto se debe a la reducción del pH hasta un valor inferior a 2.5, en donde las moléculas de enrofloxacin y ciprofloxacina se encuentran mayormente no disociadas, permitiendo así una mejor detección cromatográfica.

Se sabe que las fluoroquinolonas dan picos cromatográficos asimétricos con colas pronunciadas (tailing) en cromatografía en fase reversa (Manceau y col., 1999), efecto debido a los residuos silanoides y a las impurezas metálicas del material de empaque de las columnas C<sub>18</sub>. Esto puede ser reducido si se utilizan fases móviles con alta fuerza iónica o con bajo pH, mediante el adición de modificadores como el ácido cítrico, ácido perclórico o aminas terciarias (Horie y col.1994). En este trabajo se utilizó una amina terciaria, trietilamina, lográndose picos cromatográfico con muy poca asimetría.

Las fluoroquinolonas son drogas altamente polares debido a la presencia de dos grupos ionizables, el ácido carboxílico y la piperazina (Lizondo y col., 1997). Debido a eso, muchos autores han utilizado fases móviles con apareadores iónicos para mejorar la detección y separación de estas drogas (Tyczkowska y col., 1989; Horie y col., 1994; Tyczkowska y col., 1994; Anadón y col., 1995a). En este trabajo se ensayó con varios de los apareadores iónicos utilizados por estos autores, como el yoduro de tetrabutilamonio, heptanosulfonato de sodio, octanosulfonato de sodio, y decanosulfonato de sodio. La utilización de estos apareadores iónicos no aumentó en forma significativa la recuperación y separación de la enrofloxacin y la ciprofloxacina a partir de plasma. Sin embargo, en la cuantificación cromatográfica de estas drogas en tejidos, la utilización del ácido heptanosulfónico

como apareador iónico fue el factor determinante para lograr picos cromatográficos despejados, y suprimir picos pertenecientes a sustancias contaminantes.

En cuanto a la columna cromatográfica utilizada como fase estacionaria, cabe acotar que no hubo una pérdida significativa de rendimiento luego de más de 1000 inyecciones cromatográficas.

Se trabajó con una longitud de onda de 278 nanómetros en la detección ultravioleta, teniendo en cuenta la máxima absorbancia molar correspondiente a un solvente compuesto mayormente por agua (Lizondo y col., 1997), y otros componentes (Tyczkowska y col., 1989; Tyczkowska y col., 1994, Manceau y col., 1999). En la detección fluorescente se utilizaron longitudes de onda de 278 y 446 nanómetros para emisión y excitación, respectivamente.

Se intentó usar un patrón interno que facilitase el procesado de los datos. Se ensayó con ofloxacina y con norfloxacin, ambas descritas en la literatura, pero fue muy difícil la obtención, separación e identificación de los picos cromatográficos de la enrofloxacin, ciprofloxacin y la droga patrón con todos los métodos ensayados, principalmente cuando se analizaron las concentraciones más altas.

#### VI.4. De los métodos de cálculo y del tipo de regresión usado

Los métodos usados en los cálculos farmacocinéticos han evolucionado desde el clásico análisis de regresión lineal, el cual necesita transformación logarítmica de los valores de las concentraciones plasmáticas, a una metodología no lineal, en la cual no es necesario linealizar las funciones (Errecalde y col., 1997).

Una condición necesaria para poder utilizar la regresión no lineal por mínimos cuadrados para estimar los parámetros farmacocinéticos es la presunción de variancias homogéneas. Ya que esta condición es raramente encontrada en los datos farmacocinéticos, puede usarse la regresión no lineal por mínimos cuadrados con datos pesados (Errecalde y col., 1997).

Sin embargo, y con una finalidad puramente experimental, en nuestro trabajo utilizamos tanto la regresión lineal como la no lineal, con datos pesados en el segundo caso. Además, los ensayos lineales se utilizaron a fin de obtener las primeras estimaciones de los parámetros para alimentar con ellos el programa informático que realizó el análisis no lineal. También se calcularon los parámetros farmacocinéticos por metodologías más simple, mediante fórmulas (Baggot, 1986; Domenech Berrozpe y col., 1997; Gibaldi y Perrier, 1982) y programas informáticos más simples, con la intención de evaluar si pueden considerarse aún útiles para un análisis farmacocinético de rutina.

Para el análisis de los parámetros farmacocinéticos se utilizaron modelos compartimentales, asumiendo que los procesos de distribución y eliminación obedecen a una cinética de primer orden.

Baggot (1978) sostiene que aunque el uso de modelos compartimentales necesita de una serie de suposiciones previas, esta técnica farmacocinética para el análisis de la disposición de las drogas *in vivo* constituye el medio más eficiente de predecir el valor potencial del fármaco y su régimen de dosificación.

De hecho, el ajuste a un modelo más simple permite un tratamiento más fácil de los datos y una más rápida obtención de los parámetros cinético. Es necesario, no obstante, utilizar criterios objetivos para la selección del modelo. Cuando se hace el análisis farmacocinético, resulta obvio que al tratarse de curvas de concentración de la droga en el tiempo, y al ser éstas divididas en fases para su mejor análisis, cuanto mayor sea la cantidad de fases mejor ajustará la curva de datos teóricos a los datos estimados, y mejor será el coeficiente de correlación. Esto pareciera indicar la conveniencia

de trabajar con modelos cinéticos basados en ecuaciones multiexponenciales. Sin embargo, en la práctica, los modelos que simulan más de tres compartimientos revisten tal grado de complejidad, que aún usando programas modernos y las más sofisticadas herramientas informáticas, su análisis se vuelve extremadamente dificultoso. La aplicación el criterio de información de Akaike (AIC) permite considerar las diferencias cuadráticas mínimas entre datos estimados y experimentales, como en cualquier correlación, pero penaliza la inclusión de nuevos compartimientos al modelo, haciendo más objetiva y esencialmente práctica la elección del modelo.

Vamos a citar aquí a Montgomery y col. (2004):

*"Los modelos polinomiales son útiles cuando el analista sabe que hay efectos curvilíneos presentes en la función verdadera de respuesta. También son útiles como funciones de aproximación a relaciones no lineales, desconocidas y posiblemente muy complejas. Es importante mantener tan bajo como sea posible el orden del modelo. Como regla general, se debe evitar el uso de polinomios de orden superior, a menos que se puedan justificar por razones ajenas a los datos. El ajuste arbitrario de polinomios de orden superior es un grave abuso del análisis de regresión. Siempre se debe tener un sentido de parsimonia, esto es, se debe usar el modelo más simple posible que sea consistente con los datos y el conocimiento del ambiente del problema. Recuérdese que en un caso extremo siempre es posible hacer pasar un polinomio de orden  $n-1$  por  $n$  puntos, por lo que siempre se puede encontrar un polinomio con grado suficientemente alto que produzca un ajuste bueno con los datos. Ese modelo no contribuiría a mejorar el conocimiento de la función desconocida como tampoco sería un buen predictor."*

Estos conceptos quieren decir que cualquiera sea el comportamiento de los datos, en nuestro caso las concentraciones plasmáticas en el tiempo, siempre es posible lograr un buen ajuste a un modelo teórico mediante polinomios complejos, hasta el punto de justificar resultados totalmente ajenos a la realidad. Por eso es necesaria la utilización de un criterio, que como el de Akaike, castigue la complejidad de los modelos. En este sentido, debemos tener cuidado de que el tratamiento matemático no nos haga perder de vista el verdadero objetivo de nuestro estudio:

***"They were `so intent on making everything numerical' that they frequently missed seeing what there to be seen"***

Barbara McClintock, Premio Nobel (Gabrielsson y Weiner, 1999)

Para los cálculos por regresión no lineal se seleccionaron varios esquemas de ponderación: 1,  $1/x$ ,  $1/x^2$  y  $1/\bullet x$ . Luego de correr los juegos de datos correspondientes a cada animal, para cada vía, y cada uno de los esquemas de ponderación, se trazaron gráficas representando los residuales entre los datos experimentales y los estimados con cada uno de los esquemas de pesaje y para cada tiempo. Se seleccionó el esquema de ponderación que generaba la distribución más homogénea, más pareja, y más aleatoria a lo largo de todos los tiempos (Errecalde y col., 1997).



## VI.5. De los parámetros farmacocinéticos

### VI.5.1. Estudio Intravenoso

La cinética de la enrofloxacin luego de su administración intravenosa pudo ser descripta mejor por un modelo tricompartmental abierto con eliminación desde el compartimiento central, con una cinética de distribución y eliminación de primer orden. Varios autores (Pugliese y col.,1991; Bregante y col.,1999; Elsheikh y col.,2002) describieron mejor la cinética de la enrofloxacin luego de la administración intravenosa a ovejas por un modelo abierto bicompartimental. Sin embargo, en nuestro estudio la aplicación del criterio de Akaike mostró una diferencia significativa a favor del modelo tricompartmental. Es de destacar, por lo tanto, que si bien la mayoría de los trabajos ajustan los datos a un modelo bicompartimental, pocos han utilizado el criterio de Akaike para su selección. En general no se presta demasiada atención al tema de la discriminación del modelo que mejor describe los datos y eso hace que sea el modelo bicompartimental el que se selecciona, por ser el más versátil y, aunque más complejo que el monocompartmental, aún de ejecución relativamente sencilla. Por otra parte, justo es decir que, con datos de concentraciones plasmáticas de drogas administradas por vías extravasculares en animales, cuando se hace una discriminación por medio de test Maice, es muy frecuente que el modelo seleccionado sea el bicompartimental con absorción de primer orden.

Deben considerarse, por lo tanto, las diferencias entre los parámetros farmacocinéticos calculados entre nuestro estudio, y aquellos encontrados por autores que ajustaron sus datos a modelos bicompartimentales para la administración intravenosa.

Los resultados mostraron que la enrofloxacin es rápida y ampliamente distribuida luego de la administración intravenosa. La desaparición de la droga desde el plasma de ovejas se caracteriza por una rápida distribución inicial ( $t_{1/2\alpha}$  0.07 h), seguida por una segunda fase de distribución más lenta ( $t_{1/2\beta}$  0.76 h). Una pauta de distribución similar a nuestra distribución inicial ( $0.073 \pm 0.008$  h) fue reportada por Rao y col. (2002a) luego de la administración de una dosis similar de enrofloxacin a caprinos. Haritova y col. (2003) encontraron una semivida de distribución de 0.088 horas en ovejas, pero utilizando un método microbiológico, con lo cual se considera distribución de enrofloxacin y

ciprofloxacina juntas. Malbe y col. (1996) reportaron en vacas una semivida de distribución de 0.085 horas.

Pugliese y col. (1991) y Elsheikh y col. (2002), utilizando también un método microbiológico, reportaron en ovejas vidas media de distribución de la enrofloxacin de 0.17 y 0.24 h horas, respectivamente.

Bregante y col. (1999), empleando HPLC, reportaron una  $t_{1/2\alpha}$  de la enrofloxacin de 0.25 h en ovinos. Valores de semivida de distribución para la enrofloxacin parecidos a estos últimos, y superiores a los hallados por nosotros, fueron reportados por Sharma y col. (2003) y Kumar y col (2003) en búfalos (0.13 h y 0.28 h, respectivamente), por El-Sooud (2003) en cabras (0.23 h); por Gavrielli y col. (1995) en camellos (0.20 h), y por Christensen y col. (1996) en llamas (0.35 h).

Sin embargo, todos los trabajos citados utilizaron un modelo bicompartimental para la obtención de este parámetro, y eso significa que las comparaciones no son fáciles. Si consideramos que las fases de distribución y eliminación en un modelo bicompartimental se dividen en dos fases de distribución y una de eliminación en un modelo tricompartmental, entonces, aún con los mismos datos experimentales podemos esperar encontrar una semivida de distribución al compartimiento superficial más rápida en el modelo de tres compartimientos respecto de la semivida de distribución del de dos, una semivida de distribución al compartimiento profundo más lenta en el modelo de tres compartimientos respecto de la semivida de distribución del de dos y una semivida de eliminación más corta en el modelo de dos compartimientos respecto del de tres. De todos modos, todos los valores de distribución presentados son representativos de una distribución importante, lo cual se confirma con los grandes volúmenes de distribución y las relaciones entre microconstantes, como veremos más adelante.

Si bien es complicado hablar de concentraciones plasmáticas máximas luego de una administración intravascular de una droga, ya que la podemos definir farmacocinéticamente como la suma de los dos términos de intercepción A y B, o más fisiológicamente, estimar la cantidad de droga administrada diluida en el total de la volemia del animal experimental, en el presente caso, consideraremos la concentración obtenida en el momento de la primera toma de muestra, a los 2.5 minutos, en que se obtuvo un promedio de concentraciones plasmáticas por encima de 6.8  $\mu\text{g/ml}$ , y encontramos que el promedio de las concentraciones plasmáticas de los 8 animales fue mayor a los

0.10 µg/mL hasta las 12 horas post- administración. Esto será considerado en el tratamiento que daremos posteriormente a los parámetros PK/PD, en donde integramos datos farmacocinéticos y farmacodinámicos. A ese efecto, pensamos que la forma de medición que adoptamos es la que más se ajusta a nuestra necesidad.

En nuestro ensayo, La semivida de eliminación de la enrofloxacin luego de la administración intravenosa en ovejas fue de  $4.57 \pm 1.08$  horas. Valores similares de 4.87 horas en terneros y 4.0 horas en cabras fueron informados por Kaartinen y col. (1997) y Elmas y col. (2001), respectivamente. La semivida de eliminación calculada en nuestro estudio fue mayor que la encontrada en otros estudios realizados en ovejas. Pugliese y col. (1991) reportaron en esta especie un promedio de 1.46 horas, Mengozzi y col. (1996) 3.73 horas, Haritova y col. (1997) 3.30 horas, Pozzin y col. (1997) 3.8 horas, Bregante y col. (1999) 2.5 horas, y Elsheikh y col. (2002) 3.26 horas. Con respecto a otras especies rumiantes, se encontraron valores un poco menores en camellos (3.60 h, Gavrielli y col., 1995), llamas (3.38 h, Christensen y col., 1996), cabras (2.39 h, El-Sooud, 2003) y búfalos (2.92 h, Kumar y col., 2003; 2.87 h, Sharma y col., 2003). En otros estudios realizados con cabras, se encontraron semividas de eliminación mucho más cortas que en ovejas luego de la administración intravenosa de la droga. Rao y col. (2000, 2002a) en 2 ensayos en cabras hallaron  $t_{1/2\beta}$  promedios de 1.14 y 0.73 horas, respectivamente. Los autores no explican la razón de esta diferencia. En vacas en lactancia, Kaartinen y col. (1995) encontraron una semivida de 1.68 horas para la enrofloxacin, mientras que Harron y col. (1997) encontraron que la semivida de eliminación para camellos jóvenes fue de casi 12 horas.

En la consideración de estas diferencias hay que tener en cuenta que ninguno de estos autores utilizó un modelo tricompartmental, y algunos usan modelos no compartimentales. Como hemos explicado antes, al ser modelos con menos fases, la pendiente de la curva en la fase de eliminación siempre es mayor, con una mayor constante de eliminación y consecuentemente una semivida de eliminación más corta. Cuando calculamos la semivida por un método simple, no compartimental, el valor promedio fue de de 2.12 horas.

Por otro lado, son llamativamente largas las semividas de eliminación de la enrofloxacin en algunas especies animales domésticas luego de su administración intravenosa.

La semivida de eliminación reportada en alpacas es de 11.2 horas (Gandofl y col., 2005).

Richez y col. (1994a) y Anadón y col. (1999) reportaron semividas de eliminación de 16 y 9 horas en cerdos, respectivamente. Nielsen y Gyrd-Hansen (1997) y Richez y col. (1997a) también reportan semividas de eliminación muy largas en cerdos, mientras que Pijpers y col. (1997) y Zeng y Fung (1997) informan de valores un poco menores. Debe destacarse, sin embargo, que en estos trabajos no se utilizaron modelos compartimentales (a excepción de Anadón y col, 1999). En este último caso, la alta sensibilidad del método ( $LC = 0.003 \mu\text{g/ml}$ ) permitió medir niveles residuales de droga en plasma hasta 24 horas post-administración, lo cual explicaría la prolongada semivida calculada.

El valor promedio que calculamos para la constante de eliminación  $\hat{\alpha}$  fue de  $0.16 \pm 0.05 \text{ h}^{-1}$ , menor a los valores de  $0.475 \text{ h}^{-1}$ ,  $0.21 \text{ h}^{-1}$ ,  $0.276 \text{ h}^{-1}$ ,  $0.22 \text{ h}^{-1}$ , y  $0.22 \text{ h}^{-1}$  hallados en ovinos por Pugliese y col. (1991), Mengozzi y col. (1996), Bregante y col. (1999), Elsheikh y col., (2002), y Haritova y col., (2003), respectivamente, todos ellos calculados con modelos bicompartimentales. Estas diferencias son coherentes con las diferencias en semivida de eliminación encontradas entre nuestros resultados y los de estos autores.

El valor de TMR que calculamos ( $2.75 \pm 0.75 \text{ h}$ ) fue similar a las 3.22 horas informadas por Bregante y col. (1999) en ovejas, y a las 2.73 horas calculadas por El-Sooud (2003) en cabras, pero fue menor a los valores medios reportados por otros autores en ovejas (5.36 h, Mengozzi y col., 1996; 4.81 h, Haritova y col., 2003), terneros (6.07 h, Kaartinen y col., 1997) y vacas (4.28 h, Malbe y col., 1996). El valor de TMR que hallamos en ovejas fue menor también a los TMR calculados en otras especies rumiantes tales como camellos (4.35 h, Gavrielli y col, 1995) y llamas (4.95 h, Christensen y col., 1996). En búfalos se encontraron valores levemente superiores, de 3.05 h horas (Kumar y col., 2003) y 3.89 horas (Sharma y col., 2003).

En cabras, los bajos valores de TMR (1.5 h, Rao y col., 2000; 0.97 h, Rao y col., 2002a) fueron coherentes con las cortas semividas de eliminación reportadas por estos autores en esta especie.

En cerdos, y también en forma concordante con las largas semividas de eliminación, Richez y col. (1994a), Nielsen y Gyrd-Hansen (1997), Richez y col. (1997a) y Anadón y col. (1999) reportaron altos valores de TMR, de 16, 11, 9.75 y 12.77 h, respectivamente.

Pareciera haber una incoherencia en nuestros resultados entre una semivida de eliminación prolongada y un tiempo de residencia relativamente corto. Sin embargo, debe considerarse que para el cálculo de la primera se utilizó un modelo tricompartmental, y para el tiempo de residencia se usaron fórmulas clásicas (Baggot, 1986; Domenech Berrozpe y col., 1997; Gibaldi y Perrier, 1982).

El valor de aclaramiento plasmático de 0.29 L/h·kg calculado en nuestro estudio fue similar a los valores medios de 0.276 y 0.277, reportados en ovejas (Bregante y col., 1999) y camellos (Gavrielli y col., 1995), respectivamente. El valor promedio calculado por métodos no compartimentales fue de 0.31 L/h·kg.

Valores un poco mayores, de 0.37 y 0.39 L/h·kg se encontraron en cerdos (Nielsen y Gyr-Hansen, 1997) y terneros (Kaartinen y col., 1997), respectivamente.

Elsheikh y col. (2002) y Haritova y col. (2003) encontraron valores de aclaramiento plasmático mayores en ovejas (0.52 L/h·kg y 0.60 L/h·kg), mientras que Rao y col. (2000), Elsheikh y col. (2002), Rao y col. (2002a) y El-Sooud y col. (2003) hallaron que en las cabras el aclaramiento plasmático es mucho más rápido, con valores promedios de 0.81, 0.70, 1.33 y 1.67 L/h·kg, respectivamente. Pugliese y col. (1991) encontraron valores similares a éstos en ovejas, con un promedio de 1.3 L/h·kg. Del mismo modo, Malbe y col. (1996) y Christensen y col. (1996) informaron valores medios de 1.26 L/h·kg y 0.70 L/h·kg para vacas y llamas, respectivamente, luego de la administración i.v. de 5 mg/kg p.v. de enrofloxacin.

En búfalos, los valores promedios de aclaramiento plasmático son significativamente mayores a los que nosotros encontramos en ovejas. Kumar y col. (2003) y Sharma y col. (2003) informaron valores medios de 1.94 y 1.67 L/h·kg, respectivamente.

Por otro lado, bajos valores de aclaramiento plasmático para la enrofloxacin ( $0.10 \pm 0.22$  L/h·kg) fueron reportados por Anadón y col. (1999) en cerdos.

La solubilidad de una droga en los lípidos determina mayormente la distribución de la misma en el cuerpo, el pasaje a los fluidos intersticiales, y la penetración celular. En general, las fluoroquinolonas tienen muy buena distribución a los tejidos. En nuestro ensayo, la media del volumen de distribución en estado estable ( $V_{d_{ss}}$ ) de la enrofloxacin luego de su administración intravascular a ovejas fue de 1.10 L/kg. Este valor es similar a los valores medios encontrados en cabras por Elmas y col. (2001) y Rao y col. (2002a) (1.20 y 1.28 L/kg, respectivamente), en cerdos por Anadón y col.

(1999) (1.26 L/kg) y en camellos por Gavrielli y col. (1997) (1.13 L/kg). En ovejas, Bregante y col. (1999) reportaron un valor medio de volumen de distribución calculado por el método del área ( $Vd_{\text{area}}$ ) de 1.53 L/kg.

Sin embargo, el valor que nosotros calculamos en ovejas es menor al reportado por otros autores en esta especie. Mengozzi y col. (1996), Elsheikh y col. (2002), Haritova y col. (2003) calcularon valores medios de  $Vd_{\text{ss}}$  de 3.02, 2.27 y 2.82 L/kg, respectivamente, todos empleando métodos microbiológicos. A su vez, el valor que encontramos en ovejas es menor a los valores hallados por Kaartinen y col. (1997) en terneros (2.28 L/kg), Christensen y col. (1996) en llamas (3.46 L/kg), Malbe y col. (1996) en vacas (2.1 L/kg), Elsheikh y col. (1992) en cabras (1.94 L/kg) y en ovejas (2.27 L/kg), y por El-Sooud (2003) en cabras (4.61 L/kg).

Si bien el valor medio del volumen de distribución de nuestro experimento es bajo en comparación con otros autores, un valor mayor a un litro sugiere buena penetración tisular, y en ese sentido nuestros resultados reafirman esta característica de las fluoroquinolonas.

El valor medio del área bajo la curva de la concentración plasmática de la droga en el tiempo ( $ABC_{0-\infty}$ ) fue estimada en 9.24  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ , luego de la administración de una dosis intravenosa única de 2.5 mg/kg de enrofloxacin a ovejas. El valor correspondiente al área bajo la curva de la concentración plasmática de la droga en el tiempo, desde el momento de la administración hasta las 10 horas post-administración ( $ABC_{0-10}$ ), fue de 8.37  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ . En concordancia con nuestros valores, Pozzin y col. (1997) y Bregante y col. (1999) reportaron en ovejas valores de  $ABC_{0-\infty}$  de 10.4 y 8.99  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ , respectivamente, usando la misma dosis. Sin embargo, los valores calculados en nuestro estudio fueron mayores a los que reportaron Pugliese y col. (1991), Mengozzi y col. (1996) y Haritova y col. (2003) en ovinos (1.65, 5.47 y 4.19  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ , respectivamente) a la misma dosis de 2.5 mg/kg. Llamativamente, Pugliese y col. y Haritova y col. utilizaron métodos microbiológicos, con lo cual cabría esperar ABC mayores, resultantes de la sumatoria de enrofloxacin y su metabolito ciprofloxacina.

Gavrielli y col. (1995) and Harron y col. (1997) reportaron valores de ABC mucho más altos en camellos. Gavrielli y col. (1995) encontraron un ABC de 18.95  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$  en camellos adultos, mientras que Harron y col. (1997) calcularon valores promedios de 41.5 y 29.31  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$  para camellos jóvenes y adultos, respectivamente. Aquí es necesario reiterar que muchos de estos estudios fueron

realizados por métodos microbiológicos, y es sabido que estos métodos expresan siempre áreas bajo las curvas de concentración de la droga en el tiempo mayores, como resultado de la sumatoria de la droga madre y su metabolito activo. No se trata, en este caso de que la concentración inhibitoria obtenida por método microbiológico, sumatoria de las actividades de enrofloxacin y ciprofloxacina, es mayor que la suma de las concentraciones de enrofloxacin y ciprofloxacina obtenidas por HPLC, sino de algo esencialmente más simple: En los estudios microbiológicos se suele reportar concentraciones de enrofloxacin a lo que, en realidad, son concentraciones sumadas de ambas drogas. Ya nos hemos referido a que expresamos nuestros valores de ABC correspondientes a la enrofloxacin solamente, pero más adelante presentaremos datos de ABC de enrofloxacin y ciprofloxacina (Baggot, 1986; Domenech Berrozpe y col., 1997; Gibaldi y Perrier, 1982).

Cuando analizamos la relación entre las microconstantes que marcan la velocidad de transferencia entre el compartimiento central y los compartimientos periféricos, podemos arribar a dos conclusiones importante sobre la distribución de la enrofloxacin. El cociente entre las microconstantes de transferencia al compartimiento superficial ( $K_{12}/K_{21} = 0.97$ ), indica un rápido intercambio superficial. Sin embargo, el mismo análisis realizado con las microconstantes de intercambio con el compartimiento profundo ( $K_{13}/K_{31} = 1.96$ ) indica que la droga tiende a acumularse en el compartimiento profundo. Este hecho se demuestra también a partir de los valores del volumen central (0.29 L/kg) y los volúmenes periféricos superficiales (0.27 L/kg) y profundo (0.55 L/kg), los cuales indican claramente la acumulación en tejidos profundos. El parámetro que mejor representa esta característica de las fluoroquinolonas es el volumen de distribución, que resulta tanto de los respectivos volúmenes centrales y periféricos, como de las microconstantes de transferencia, y que como ya hemos expresado, cuando es mayor al litro indica buena distribución tisular.

Para la determinación de los parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacina no nos fue posible utilizar regresión no lineal ni modelización compartimental, debido a los niveles erráticos de la droga y a las diferencias en el comportamiento cinético entre animales. Sin embargo, pudimos realizar un análisis no compartimental, mediante las fórmulas clásicamente utilizadas (Baggot, 1986; Domenech Berrozpe y col., 1997; Gibaldi y Perrier, 1982), y comparar los parámetros cinéticos obtenidos con los de la enrofloxacin, calculados del mismo modo.

Tabla 76: parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin y ciprofloxacina en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa (calculados mediante fórmulas) (n=8)

Parámetros	Unidad	Enrofloxacin	Ciprofloxacina
<b>C<sub>max</sub></b>	µg/mL	<b>6.83±0.71</b>	<b>0.26±0.03</b>
<b>ABC<sub>(0-t)</sub></b>	µg·h/ml	<b>8.37±3.23</b>	<b>1.37±0.17</b>
<b>ABC<sub>(0-∞)</sub></b>	µg·h/ml	<b>9.24±4.14</b>	<b>2.04±0.76</b>
<b>Const. eliminación</b>	h <sup>-1</sup>	<b>0.35±0.09</b>	<b>0.07±0.04</b>
<b>T<sub>1/2β</sub></b>	h	<b>2.12±0.63</b>	<b>14.22±11.29</b>
<b>TMR</b>	h	<b>2.75±0.75</b>	<b>16.08±13.52</b>
<b>CI</b>	ml/h/kg	<b>0.31±0.11</b>	<b>1.12±0.30</b>

C<sub>max</sub>: concentración plasmática máxima; ABC<sub>(0-t)</sub>: área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t; ABC<sub>(0-∞)</sub>: área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito; t<sub>1/2β</sub>: semivida de eliminación; TMR: tiempo máximo de residencia; CI<sub>total</sub>: aclaramiento total.

En la Tabla 76 podemos apreciar que la concentración máxima de ciprofloxacina es poco significativa con respecto a la C<sub>max</sub> de la droga madre. Sin embargo, los ABC representan un importante aporte a los ABC que resultan de la sumatoria de ambas drogas. La importancia de este hecho se pondrá de manifiesto más adelante, en el análisis de los parámetros PK/PD.

La semivida de eliminación y el tiempo máximo de residencia son muy largos, y esto se explica por el bajo valor de la constante de eliminación, lo cual probablemente se deba a la escasa pendiente de la fase de eliminación (fenómeno de cola o "tailing"). La forma de la curva de las concentraciones plasmáticas de la ciprofloxacina, con un pico poco elevado y una declinación lenta y sostenida, explican la escasa pendiente de la fase de eliminación.

### VI.5.2. Estudio intramuscular

Nuestro trabajo demuestra que los valores de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin responden a una ecuación triexponencial luego de la administración intramuscular, con la presencia de fases de absorción, distribución y eliminación. Los datos de concentración-tiempo ajustaron mejor a un modelo bicompartimental abierto con absorción de primer orden, según el criterio



de Akaike. El ajuste a este tipo de modelo farmacocinético coincide con lo reportado en estudios similares en cabras (Rao y col., 2002a; Elmas y col., 2001; El-Sooud, 2003) y en cerdos (Anadón y col., 1999).

En nuestro ensayo, la enrofloxacin fue rápidamente absorbida por la vía intramuscular, alcanzando una concentración plasmática máxima ( $C_{max}$ ) de  $2.31 \pm 0.76 \mu\text{g/mL}$  a las  $0.50 \pm 0.23$  horas ( $T_{max}$ ). Concentraciones promedio mayores a  $0.10 \mu\text{g/mL}$  persistieron hasta las 12 horas post-administración. Si al valor de  $C_{max}$  de enrofloxacin le sumamos el valor correspondiente a la  $C_{max}$  de ciprofloxacina, tenemos una  $C_{max}$  total de  $2.52 \mu\text{g/mL}$ . Las concentraciones máximas alcanzadas en nuestro estudio fueron comparables a las encontradas en otros trabajos donde la droga fue administrada por la misma vía y en la misma dosis. En un trabajo en camellos (Harron y col., 1997), donde se determinaron los niveles de la droga por HPLC, las  $C_{max}$  fueron de  $2.61 \pm 0.16$  y  $2.09 \pm 0.21 \mu\text{g/kg}$  para animales jóvenes y adultos, respectivamente.

Sin embargo, la  $C_{max}$  que encontramos en ovinos fue mayor a los valores medios reportados en otros estudios en esta especie ( $0.77 \mu\text{g/mL}$ , Pugliese y col., 1991;  $0.78 \mu\text{g/mL}$ , Mengozzi y col., 1996;  $1.6 \mu\text{g/mL}$ , Pozzin y col., 1997;  $0.74 \mu\text{g/mL}$ , Haritova y col., 2003). Nuestro valor medio de  $C_{max}$  fue también mayor al calculado en camellos ( $1.44 \mu\text{g/mL}$ , Gavrielli y col., 1995), cabras ( $1.13 \mu\text{g/mL}$ , Rao y col., 2001;  $0.68 \mu\text{g/kg}$ , El-Sooud, 2003) y cerdos ( $1.17 \mu\text{g/kg}$ , Anadón y col., 1999), luego de administrar la misma dosis por vía intramuscular.

El dato llamativo es que Pugliese y col. (1991) y Haritova y col. (2003) reportan, a la misma dosis, una  $C_{max}$  menor que nosotros y Pozzin y col. (1997), cuando cabría esperar una  $C_{max}$  mayor resultante de la sumatoria de la droga madre y su metabolito, al utilizar el método biológico. Una explicación podría ser una menor velocidad de absorción, sin embargo los  $T_{max}$  en estos experimentos son similares, tanto cuando se usó el método biológico ( $0.83$  h, Haritova y col., 2003;  $0.92$  h, Pugliese y col., 1991) como cuando se utilizó HPLC ( $1.25$  h, Mengozzi y col., 1996;  $1.7$  h, Pozzin y col., 1997).

No encontramos explicación a estas discordancias, pero podemos decir que los datos de áreas bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo que reportan Pugliese y col. (1991) y Haritova y col. (2003), usando el método microbiológico ( $2.58$  y  $3.11 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ , respectivamente), son también menores a las calculadas por nosotros ( $7.68 \pm 4.23 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ). Estos valores son llamativos, ya

que es sabido que los métodos microbiológicos dan  $C_{max}$  y ABC mayores, al sumar las concentraciones de enrofloxacin y ciprofloxacina.

El valor de área bajo la curva de la concentración de la enrofloxacin en el tiempo encontrado en ovejas en nuestro estudio fue mayor a los  $4.58 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$  encontrados en esta misma especie animal por Mengozzi y col. (1996), a la misma dosis de  $2.5 \text{ mg}/\text{kg}$  de peso vivo y utilizando HPLC.

Por otra parte, Pozzin y col. (1997) reportaron un valor de  $ABC_{(0-24)}$  de  $10.3 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$  en ovejas Nedji luego de la administración intramuscular de  $2.5 \text{ mg}/\text{kg}$  p.v. de enrofloxacin (HPLC), y Harron y col. (HPLC) encontraron que los valores promedio del  $ABC_{(0-24)}$  fueron de  $33.10$  y  $31.01 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$  en camellos jóvenes y adultos, respectivamente, luego de la administración de la droga por la misma vía y a la misma dosis. En estos trabajos las  $C_{max}$  fueron similares a las que calculamos en ovinos, pero las semividas de eliminación fueron muy largas, lo cual explica los altos valores de ABC.

La distribución de la enrofloxacin luego de la administración intramuscular fue rápida, con una semivida de distribución ( $t_{1/2\alpha}$ ) de  $0.74\pm 0.23$  h, similar a las  $0.76\pm 0.46$  horas encontradas en camellos (Gavrielli y col., 1995), pero menor a las  $0.31$  h calculada por Pugliese y col (1991) en ovinos.

La biodisponibilidad de la enrofloxacin luego de la administración intramuscular fue del  $83\%$  en nuestro estudio. Estos valores concuerdan con los encontrados en ovejas ( $85\%$ , Mengozzi y col., 1996;  $83\%$ , Elsheikh y col., 2002), camellos ( $85\%$ , Gavrielli y col., 1995) y vacas en lactancia ( $82\%$ , Kaartinen y col., 1995), y fue muy parecido a lo calculado por Haritova y col. (2003) en ovejas ( $75,35\%$ ).

El volumen de distribución en estado estable ( $V_{ss}$ ) fue de  $1.46\pm 0.42$  L/kg, lo cual indica una buena distribución a los tejidos. Este valor resultó un poco menor a los valores medios encontrados en otros estudios realizados en ovejas ( $2.27$  L/kg, Elsheikh y col., 2002), y similar al calculado en otras especies, como cabras ( $1.5$  L/kg, Elmas y col., 2001) y cerdos ( $1.66$  L/kg, Anadón y col., 1999). Podemos comparar el valor del ( $V_{ss}$ ) que obtuvimos en ovinos, con valores de volumen de distribución calculados por el método del área, teniendo en cuenta que éste último siempre es mayor que el anterior. Rao y col. (2001) calcularon en cabras un  $V_{d(\text{area})}$  de  $1.42$  L/kg para la enrofloxacin administrada por vía intramuscular a una dosis de  $2.5 \text{ mg}/\text{kg}$ , y Rao y col. (2002b) reportaron un valor medio de  $V_{d(\text{area})}$  de  $1.52$  L/kg, en esta misma especie, por la misma vía de administración, pero a

una dosis de 5 mg/kg. Como dato llamativo, e ilustrativo de las grandes diferencias encontradas a veces en un mismo parámetro farmacocinético, e inclusive en una misma especie, Verma y col. (1999) reportan un volumen aparente de distribución promedio ( $V_{d(B)}$ ) de 0.61 L/kg para la enrofloxacin administrada por vía intramuscular a una dosis de 5 mg/kg en búfalos, mientras que Sharma y col. (2003), en la misma especie y a la misma dosis (aunque con distintos métodos analíticos) calcularon un  $V_{d(areá)}$  promedio de 10.62 L/kg.

La enrofloxacin fue lentamente eliminada luego de la administración intramuscular en las ovejas de nuestro estudio, con una semivida de eliminación de 4.20 horas. Estos resultados son similares a los reportados en otros trabajos con ovejas (3.65 h, Mengozzi y col., 1996; 3.53 horas, Elsheikh y col., 2002; 3.87 horas, Haritova y col., 2003) y cabras (4.7 h, Elmas y col., 2001), aún cuando estos autores emplearon distintos métodos, HPLC y microbiológico, para la determinación de las concentraciones de la droga en plasma. Aquí nuevamente es necesario considerar que en la mayoría de los trabajos de los autores citados, se trabajó con modelos monocompartimentales, mientras que nosotros lo hicimos con un modelo bicompartimental triexponencial. Por lo cual, en nuestro ensayo la parte de la curva de la concentración plasmática de la droga correspondiente a la fase de eliminación tiene una pendiente menos pronunciada, y una constante de eliminación menor.

Sin embargo, Pugliese y col. (1991) encontraron en ovinos valores mucho más bajos para este parámetro, con una media de 1.62 horas, y Rao y col. (2001,2002b) y El-Sooud (2003) calcularon semividas mucho más cortas en cabras (0.74, 1.39 y 1.51 horas, respectivamente) para la enrofloxacin administrada por vía intramuscular. Aquí aparece otra vez la gran diferencia en las semividas de eliminación entre dos especies animales tan parecidas, y tal como ya se expresó al inicio de esta discusión, especies muy similares pueden diferir bastante en cuanto a la capacidad metabólica de las enzimas que participan en la biotransformación de xenobióticos y fármacos Szotákova y col. (2004).

Por otro lado, la semivida de eliminación para la enrofloxacin administrada en forma intramuscular a las ovejas de nuestro ensayo fue menor que la calculada por otros autores en ovejas (5.3 h, Pozzin y col., 1997), vacas en lactancia (5.90 h, Kaartinen y col., 1995), camellos (6.36 h, Gavrielli y col., 1995; 7.51 h, Harron y col., 1997) y cerdos (12.06 h, Anadón y col. 1999). Como dato

llamativo, Harron y col. (1997) encontraron que la semivida de la enrofloxacin en camellos jóvenes, luego de la administración intramuscular de la droga, fue mayor a 16 horas.

No encontramos una explicación racional para estas diferencias entre los valores de semivida reportados por los distintos autores en ovinos y en especies similares, porque del análisis de los métodos analíticos utilizados, o los modelos cinéticos simulados, no se desprende una pauta claramente relacionada. Pugliese y col. (1991), Elsheikh y col. (2002) y Haritova y col. (2003), utilizaron el método microbiológico para la determinación de las concentraciones de enrofloxacin en plasma. Los dos primeros autores ajustaron sus datos a un modelo monocompartimental, mientras que Haritova y col. (2003) utilizaron un método no compartimental de análisis farmacocinético, que en general da resultados no muy distintos al modelo monocompartimental. Sin embargo, los valores promedio de semividas de eliminación reportados por estos autores fueron de 1.6 h (Pugliese y col., 1991), 3.53 h (Elsheikh y col., 2002) y 3.87 h (Haritova y col., 2003). Al mismo tiempo, en cabras, Rao y col. (2001, 2002) reportaron valores promedio de  $t_{1/2}$  de 0.74 h y 1.39 h, respectivamente, utilizando en ambos casos HPLC como método analítico, y un modelo monocompartimental para el cálculo de los parámetros cinéticos. Los autores no discuten la razón de esta diferencia.

Cuando calculamos este parámetro con métodos más sencillos que la regresión no lineal, y sin utilizar un modelo compartimental, obtuvimos valores de semivida menores. Esto puede deberse a que una modelización bicompartimental considera que las concentraciones plasmáticas responden a un modelo matemático triexponencial, con fases de absorción, distribución y eliminación, mientras que los cálculos más simples consideran solamente dos exponentes. Debido a esto, la recta de fase de eliminación tiene menos pendiente (constante de eliminación) cuando usamos 3 exponenciales que cuando usamos 2, y por lo tanto, mayor tiempo de semivida de eliminación. Por eso los valores calculados para este parámetro fueron de 2.57 y 2.58 horas cuando se calcularon con el programa PKCALC y con fórmulas clásicas (Baggot, 1986; Domenech Berrozpe y col., 1997; Gibaldi y Perrier, 1982) respectivamente, muy inferiores a los 4.20 horas calculadas por regresión no lineal.

A veces existen diferencias marcadas en una misma especie. Por ejemplo, es significativa la diferencia entre lo reportado para este parámetro por Varma y col. (1999), quienes describieron una corta semivida de la enrofloxacin en búfalos (1.97 h), y Sharma y col. (2003), quienes en esta misma

especie calcularon una semivida de eliminación de 5.63 horas, aún cuando usaron distintos métodos de cuantificación de la droga .

El tiempo medio de residencia de la enrofloxacin luego de la administración intramuscular en ovejas fue de 3.74 h. Tiempos medio de residencia menores han sido reportados en cabras (1.54 h, Rao y col., 2001; 2.94 h, El-Sooud, 2003) y búfalos (3.13 h, Verma y col., 1999). Estas diferencias son coherentes con las semividas de eliminación más cortas reportadas por estos autores.

Por otra parte, el valor de TMR encontrado en nuestro estudio fue menor al reportado en otros trabajos en ovejas (5.23 h, Mengozzi y col., 1996; 4.67 h, Elsheikh y col., 2002; 4.52 h, Haritova y col., 2003). Puede llamarnos la atención que siendo la semivida de eliminación reportada por estos autores inferior a la que calculamos (4.20 h), el TMR sea mayor, Es necesario entonces recordar que TMR es un parámetro no compartimental, y que si tomamos la semivida que calculamos por el método compartimental (2.58 h), es menor a la calculada por esto autores, y no hay incoherencia en que nuestro TMR sea menor. En este caso sería un error relacionar una semivida de eliminación calculada bajo un modelo tricompartmental con el TMR, clásicamente calculado por métodos no compartimentales.

Nuestro valor de TMR fue mucho menor que el encontrado en vacas en lactancia (7.98 h, Kaartinen y col.,1995), cerdos (17.15 h, Anadón y col., 1999) y búfalos jóvenes (6.31 h, Sharma y col., 2003).

Mas allá de las diferencias entre los valores reportados por los distintos autores, tanto para la semivida de eliminación como para el tiempo medio de residencia de la enrofloxacin en ovejas, los valores que hemos calculado para estos parámetros confirman uno de los principales rasgos de las fluoroquinolonas. Estos valores nos dicen que podemos administrar la droga en forma espaciada, más aún si consideramos su mecanismo de acción concentración-dependiente y su efecto post-antibiótico.

El valor de aclaramiento plasmático ( $0.41 \pm 0.21$  L/h·kg) fue comparable a los 0.62 L/h·kg reportados por Mengozzi y col. (1996) en ovinos, pero fue menor que los 0.93 L/h·kg calculados por Pugliese y col. (1991) en esta especie, y a los 0.80 L/h·kg (Rao y col., 2002b) y 1.33 L/h·kg ( Rao y col., 2001) reportados en cabras. En cerdos, donde tanto la semivida de eliminación como el tiempo medio de residencia son prolongados, el aclaramiento plasmático es consecuentemente más lento

que en las otras especies de animales estudiadas, con un valor medio de 0.10 L/h·kg (Anadón y col., 1999).

Cuando analizamos la relación entre las microconstantes que marcan la velocidad de transferencia entre el compartimiento central y los compartimientos periféricos, podemos arribar a varias conclusiones importantes sobre la distribución de la enrofloxacin administrada por vía intramuscular. El cociente entre las microconstantes de transferencia al compartimiento superficial ( $K_{12}/K_{21} = 0.72$ ), indica un intercambio entre el compartimiento central y el periférico de velocidad moderada, que resulta menor al calculado por la vía intravenosa ( $K_{12}/K_{21} = 0.97$ ). En este caso es probable el ingreso de la droga a los tejidos sea limitado por la velocidad de absorción desde el sitio de inyección.

Para la determinación de los parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacina luego de la administración intramuscular de enrofloxacin, y del mismo modo que comunicamos en el caso de la vía intravenosa, no nos fue posible utilizar regresión no lineal ni modelización compartimental, debido a los niveles erráticos de la droga y a las diferencias en el comportamiento cinético entre animales. Sin embargo, pudimos realizar un análisis no compartimental, mediante las fórmulas clásicas (Baggot, 1986; Domenech Berrozpe y col., 1997; Gibaldi y Perrier, 1982), y comparar los datos de los parámetros cinéticos con los de la enrofloxacin, calculados del mismo modo (tabla 77).

Tabla 77: parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin y ciprofloxacina en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intramuscular(calculados mediante fórmulas clásicas (n=8)

Parámetros	Unidad	Enrofloxacin	Ciprofloxacina
$C_{max}$	µg/mL	2.31±0.76	0.21±0.03
$T_{max}$	H	0.50±0.23	2.00±0.71
$ABC_{(0-t)}$	µg·h/ml	6.80±3.35	1.32±0.26
$ABC_{(0-\infty)}$	µg·h/ml	7.68±4.23	2.61±1.27
Const. eliminación	$h^{-1}$	0.35±0.09	0.07±0.04
$T_{1/2\beta}$	H	2.58±1.08	15.93±11.79
TMR	H	3.74±1.52	18.60±13.68

$C_{max}$ : concentración plasmática máxima;  $ABC_{(0-t)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t;  $ABC_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito;  $t_{1/2\beta}$ : semivida de eliminación; TMR: tiempo máximo de residencia;  $Cl_{total}$ : aclaramiento total.

La concentración plasmática máxima no representa un aporte importante a la  $C_{max}$  de la enrofloxacin, pero el ABC de la ciprofloxacina es de un valor cercano al 20 % del ABC de la enrofloxacin. Esto significa un aporte importante a la actividad antimicrobiana, más si se tiene en cuenta que las fluoroquinolonas son drogas con mecanismos de acción dependientes de la concentración, en las cuales el ABC es importante a la hora de valorar la eficacia. Como dijimos al tratar la vía intravascular, la importancia del aporte del ABC de la ciprofloxacina a la acción antimicrobiana de la enrofloxacin se pondrá de manifiesto más adelante, en el análisis de los parámetros PK/PD.

Para la semivida de eliminación y el tiempo máximo de residencia cabe el mismo análisis hecho anteriormente para la vía intravenosa. Estos valores son muy altos, y se explican por el bajo valor de la constante de eliminación, lo cual probablemente se deba a la escasa inclinación de la pendiente de la fase de eliminación (fenómeno de cola o "tailing"). La forma de la curva de las concentraciones plasmáticas de la ciprofloxacina, con un pico poco elevado y una declinación lenta y sostenida, explican la escasa pendiente de la fase de eliminación.

### VI.5.3. Estudio subcutáneo

Se han publicado muy pocos estudios farmacocinéticos con enrofloxacinina administrada por la vía subcutánea a ovinos, lo cual es llamativo, dado que esta vía podría representar una rápida y fácil administración en esta especie, al mismo tiempo que es fácilmente adoptada por los productores.

En nuestro experimento, los datos de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacinina en el tiempo, luego de la administración subcutánea a una dosis de 2.5 mg/kg, ajustaron mejor a un modelo bicompartimental abierto con absorción de primer orden y eliminación desde el compartimiento central, según el criterio de Akaike.

La absorción de enrofloxacinina luego de la administración subcutánea fue rápida. Los picos de concentración plasmática de enrofloxacinina ( $2.02 \pm 0.26 \mu\text{g/mL}$ ) y ciprofloxacina ( $0.21 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$ ) se alcanzaron a las  $0.63 \pm 0.37$  y  $2.0 \pm 0.71$  horas, respectivamente. Concentraciones promedio de enrofloxacinina mayores a  $0.10 \mu\text{g/mL}$  se mantuvieron por 8-12 h. Estas  $C_{\text{max}}$  podrán ser evaluadas más adelante, durante el análisis PK/PD.

Gavrielli y col. (1995). luego de administrar enrofloxacinina a camellos, por la misma vía y a la misma dosis, determinaron una  $C_{\text{max}}$  de enrofloxacinina un poco inferior, de  $1.23 \mu\text{g/mL}$  una hora luego de la administración; y Kaartinen y col. (1995), en vacas en lactancia, reportaron una concentración máxima más baja, de  $0.98 \mu\text{g/mL}$ , a las 3.20 horas. Otros autores, McKellar y col. (1999) encontraron un promedio de concentraciones plasmáticas máximas de  $0.242 \mu\text{g/mL}$  (HPLC) y  $0.491 \mu\text{g/mL}$  (método microbiológico) a las 1.75 y 2.25 h, respectivamente, en terneros a los cuales se les administró enrofloxacinina a la misma dosis de 2.5 mg/kg de peso vivo por vía subcutánea. Richez y col. (1994b) informaron de una  $C_{\text{max}}$  de  $0.84 \mu\text{g/mL}$  en terneros, a una dosis de 5 mg/kg, alcanzada a las 1.9 horas. En estos casos, las bajas concentraciones máximas pueden explicarse por la lenta absorción, como lo demuestran los  $T_{\text{max}}$  más prolongados.

El área bajo la curva de concentración plasmática de enrofloxacinina en el tiempo en ovejas luego de la administración subcutánea de 2.5 mg/kg fue de  $5.75 \pm 1.32 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ .

La biodisponibilidad fue del 62 %, resultó un 18% menor que la encontrada en este mismo estudio por la vía intramuscular. Si bien el valor subcutáneo es bueno, la diferencia con el intramuscular no nos permite decir que ambas vías sean bioequivalentes. El 62% de bioequivalencia



subcutánea es menor que el reportado en camellos (Gavrielli y col., 1995), bovinos (Richez y col., 1994b; Mckellar y col., 1997; Martínez Larrañaga y col., 1997a) y alpacas (Gandolf y col., 2005), especies donde la enrofloxacin es extensamente absorbida luego de su administración subcutánea, con una biodisponibilidad mayor al 90 %. Sin embargo, no es un valor despreciable, considerando que cuando se administran drogas por vía parenteral el ABC es mucho menos pronunciado que los ABC correspondientes a las vías intravasculares, y mucho de la droga se encuentra por debajo del límite de detección del método en la parte final de su curva de disposición. Esto es en general particularmente cierto para la vía subcutánea.

El volumen de distribución en estado estable fue de  $1.32 \pm 0.38$  L/kg, lo cual indica que la enrofloxacin fue bien distribuída hacia los tejidos en ovejas luego de la administración subcutánea.

La semivida de eliminación de enrofloxacin luego de una inyección por vía subcutánea fue de  $3.40 \pm 1.55$  h. Este valor es algo mayor al valor medio de 2.84 h encontrado en cabras por Ramesh y col. (2002). Sin embargo, cuando calculamos este parámetro por el método no compartimental, tal como lo hace Ramesh y col.(2002), el valor fue de 2.19 horas, un valor similar al de nuestro ensayo. En terneros se reportó un valor similar al que calculamos en ovejas, de 3.6 horas (Richez y col., 1994b)

Nuevamente, la semivida de eliminación reportada en camellos es significativamente mayor, con un valor promedio de 10.58 horas (Gavrielli, 1995), similar a la semivida de eliminación de 8.7 horas encontrada en alpacas (Gandolf y col., 2005).

El tiempo medio de residencia que calculamos fue de 3.30 horas como promedio, algo inferior a las 5.74 horas reportadas por Ramesh y col.(2002) en cabras.

El valor promedio de aclaramiento plasmático de la enrofloxacin encontrados en este estudio fue de  $0.43 \pm 0.10$  L/h·kg.

Cuando analizamos la relación entre las microconstantes que marcan la velocidad de transferencia entre el compartimiento central y los compartimientos periféricos, podemos arribar a conclusiones algo distintas a las que arribamos con la distribución de la enrofloxacin administrada por vía intramuscular. El cociente entre las microconstantes de transferencia al compartimiento superficial ( $K_{12}/K_{21} = 1.12$ ), indica un rápido intercambio superficial, incluso mayor al de la vía intravenosa. Aparentemente la velocidad de absorción de la droga desde el sitio de inyección no

limita el ingreso de la droga a los tejidos profundos. Sin embargo, como discutiremos mas adelante, tanto la tasa de absorción como de distribución de la enrofloxacin administrada por la vía subcutánea son significativamente menores que cuando se administra la droga por vía intramuscular.

Para la determinación de los parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacina luego de la administración subcutánea de enrofloxacin no nos fue posible utilizar regresión no lineal ni modelización compartimental, debido a los niveles erráticos de la droga y a las diferencias en el comportamiento cinético entre animales. Sin embargo, pudimos realizar un análisis no compartimental, mediante las fórmulas clásicas (Baggot, 1986; Domenech Berrozpe y col., 1997; Gibaldi y Perrier, 1982), y comparar los datos de los parámetros cinéticos con los de la enrofloxacin, calculados del mismo modo (tabla 78).

El promedio de las concentraciones plasmáticas máximas de la ciprofloxacina es igual a un 10 % de la  $C_{max}$  de la enrofloxacin, lo cual no significa un gran aporte, pero el ABC de la ciprofloxacina es de un valor cercano al 46 % del ABC de la enrofloxacin. Esto significa un aporte importante a la actividad antimicrobiana, más si se tiene en cuenta que las fluoroquinolonas son drogas con mecanismos de acción dependientes de la concentración, en las cuales el ABC es importante a la hora de evaluar la eficacia.

Algunas variables farmacocinéticas del metabolito ciprofloxacina son diferentes cuando la enrofloxacin es administrada en forma intravenosa, intramuscular y subcutánea. En particular, el hecho de que la proporción de ciprofloxacina sea mayor cuando se administra la enrofloxacin en forma subcutánea que cuando se lo hace por vía intramuscular, y que sea mayor en la administración parenteral que en la administración intravenosa,, sugiere que una distribución más rápida de la droga madre a los tejidos luego de la administración intravenosa evitaría una mayor disponibilidad de la enrofloxacin para su biotransformación.

Como dijimos al tratar la vía intravascular, la importancia del aporte del ABC de la ciprofloxacina a la acción antimicrobiana de la enrofloxacin se pondrá de manifiesto más adelante, en el análisis de los parámetros PK/PD.

Para la semivida de eliminación y el tiempo máximo de residencia cabe el mismo análisis hecho anteriormente para las otras vías de administración. Estos valores son muy altos, y se explican por el bajo valor de la constante de eliminación, lo cual probablemente se deba a la escasa pendiente

de la fase de eliminación (fenómeno de cola o "tailing"). La forma de la curva de las concentraciones plasmáticas de la ciprofloxacina, con un pico poco elevado y una declinación lenta y sostenida, explican la escasa pendiente de la fase de eliminación.

Tabla 78: parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin y ciprofloxacina en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía subcutánea (calculados mediante fórmulas clásicas (n=8))

Parámetros	Unidad	Enrofloxacin	Ciprofloxacina
$C_{max}$	µg/mL	2.02±0.26	0.21±0.02
$T_{max}$	h	0.63±0.23	0.88±0.44
$ABC_{(0-t)}$	µg·h/ml	5.41±1.25	0.84±0.07
$ABC_{(0-\infty)}$	µg·h/ml	5.75±1.32	2.66±0.64
Const. eliminación	h <sup>-1</sup>	0.33±0.08	0.07±0.03
$T_{1/2\beta}$	H	2.19±0.48	11.92±4.34
TMR	H	3.30±0.85	16.61±5.96

$C_{max}$ : concentración plasmática máxima;  $ABC_{(0-t)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t;  $ABC_{(0-\infty)}$ : área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito;  $t_{1/2\beta}$ : semivida de eliminación; TMR: tiempo máximo de residencia;  $CI_{total}$ : aclaramiento total.

#### VI.5.4. Estudio oral

Los resultados del estudio de los niveles plasmáticos de enrofloxacin luego de su administración oral no pudieron ser analizados en forma convencional debido al comportamiento errático de las concentraciones plasmáticas en el tiempo. Existieron muchas diferencias entre los animales con respecto a la cantidad de droga absorbida, y además se obtuvieron concentraciones plasmáticas muy bajas y cerca del límite de cuantificación, todo lo cual hizo imposible la modelización y la obtención de parámetros farmacocinéticos.

En otros estudios realizados en ovinos, el pico de concentración plasmática (0.6 µg/ml) y la biodisponibilidad (60,6 %) de la enrofloxacin fueron bajos luego de la administración oral, exigiendo el uso de dosis mayores por esta vía para alcanzar niveles razonables (Pozzin y col., 1997). En forma similar, la biodisponibilidad oral de la enrofloxacin en camellos jóvenes y adultos fué de 58 % y 37

%, respectivamente (Harron y col., 1997). En alpacas la biodisponibilidad de la enrofloxacin luego de su administracion oral es menor al 30 % (Gandolf y col., 2005).

Se sabe que las fluoroquinolonas tienen muy buena biodisponibilidad por vía oral en los animales de todas las especies domésticas, a excepción de los rumiantes (Neer, 1988; Vancutsem y col., 1990; Brown, 1996), con resultados contradictorios en los equinos (Dowling y col., 1995; Giguère y col., 1996; Langston y col., 1996 Giguère y col.,1997). En bovinos adultos la absorción oral de enrofloxacin es pobre, de aproximadamente del 10% (Vancutsem y col., 1990).

Son, además, bien conocidos los problemas de la administración oral de antimicrobianos en los rumiantes, relacionados principalmente a la complejidad y al gran volumen del aparato digestivo de estos animales. La dilución de la droga con el fluido ruminal, la unión a la ingesta, el lento pasaje hacia fuera del rumen, y la biodegradación por la flora de los preestómagos son las razones a que atribuimos su pobre absorción y baja disponibilidad, en coincidencia con Mann y Frame (1992) y Lees y AliAbadi (2002).

Estos resultados nos permiten estar de acuerdo con quienes sostienen que la dosificación de drogas antimicrobianas por la vía oral debiera ser evitada normalmente en animales con rumen funcional (Lees y AliAbadi, 2002).

#### **VI.5.5. Porcentaje del metabolito**

Luego de la administración de enrofloxacin por cualquiera de las vías utilizadas en nuestro estudio, una apreciable fracción de la droga fue metabolizada a ciprofloxacina. El metabolito representó el 26 %, 34 % y 47 % de la concentración de la droga madre en el plasma, calculado por la razón entre el promedio de las ABC de la ciprofloxacina y de la enrofloxacin luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente. Estos porcentajes son comparables al 35 % y 55 % de ciprofloxacina reportado en ovejas por Mengozzi y col. (1996) luego de la administración i.v. e i.m. de enrofloxacin, respectivamente.

La menor biosdiponibilidad por vía intravascular es un fenómeno lógico, dada la instantánea penetración de enrofloxacin al torrente circulatorio, para recién en ese momento comenzar a ser

metabolizado con su pasaje hepático. En el caso de las vías extravasculares, la enrofloxacin va entrando al torrente circulatorio en forma lenta, determinada por su tasa de absorción, haciendo que su velocidad de pasaje hepático sea menor que en el caso de la inyección intravenosa. Por lo tanto, cuanto menor sea la velocidad de absorción mayor será la disponibilidad de ciprofloxacina.

Malbe y col. (1996) encontraron que el valor medio de ABC para la ciprofloxacina en relación al valor medio de ABC de enrofloxacin representó 29 % luego de la administración intravenosa en vacas.

Otros autores han encontrado valores similares en cabras. En esta especie se ha reportado conversión metabólica de enrofloxacin a ciprofloxacina en porcentajes que varían entre un 34 % y 36 % para la vía intramuscular (Rao y col., 2001; Rao y col., 2002b), y entre 24 % y 28 % (Rao y col., 2000; Ramesh y col., 2002) luego de la inyección subcutánea.

En cerdos se han reportado valores muy variables para la proporción del metabolito ciprofloxacina con respecto a la droga madre es variable. Mientras Nielsen y Gyr-Hansen (1997) encontraron un porcentaje menor al 10 % luego de la administración oral, Anadón y col. (1999) informan de un 51.5 % luego de la administración intramuscular.

#### **VI.5.6. De las diferencias halladas entre los parámetros farmacocinéticos**

Todo lo expuesto pone de manifiesto las diferencias considerables que existen entre los parámetros cinéticos, particularmente en la tasa de eliminación de esta droga, entre algunas especies animales, explicadas en parte por las propias diferencias fisiológicas entre las especies animales, y en parte por la utilización de diferentes metodologías analíticas y de cálculo farmacocinético.

Las principales fuentes de variabilidad para los valores de los parámetros cinéticos son las diferencias entre las especies animales. Se sabe que los parámetros farmacocinéticos para una determinada droga varían comúnmente en forma amplia entre las especies animales, como consecuencia de las diferencias específicas en anatomía, fisiología y bioquímica (Lees y AliAbadi, 2002).

Bregante y col. (1999) en un estudio en el cual se compararon los parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin entre distintas especies animales, encontraron diferencias en la tasa de aclaramiento plasmático, lo cual sugiere una tasa diferente de metabolismo y/o de eliminación renal debido, probablemente, a diferencias en la unión a proteínas y en el grado de secreción tubular activa. Además, las distintas condiciones fisiológicas (sexo, raza, preñez, lactancia) modifican la fracción de droga ligada a proteína, con la consecuente diferencia en la semivida de eliminación. Por ejemplo, las diferencias en las tasas de eliminación de la droga, manifestadas por los distintos valores de semivida, tiempo medio de residencia, y aclaramiento plasmático, pueden deberse a las diferentes tasas de metabolización entre las especies, especialmente para aquellas drogas cuyo aclaramiento plasmático se lleva a cabo principalmente por metabolismo hepático y en menor grado por excreción renal, en las cuales la semivida de eliminación es altamente dependiente de la especie (Baggot, 1978; Lees y AliAbadi, 2002). Esta es una constante para la mayoría de las drogas solubles en los lípidos, y por ende para las fluoroquinolonas.

Como dato ilustrativo de lo dicho anteriormente, citamos nuevamente el trabajo de Bregante y col. (1999), quienes encontraron poca correlación entre el peso corporal de los animales y algunos parámetros farmacocinéticos como las semividas, lo cual podría deberse en parte a las diferencias en la unión de la droga a las proteínas plasmáticas, o en la tasa de metabolización. Estos autores encuentran que algunos parámetros como el volumen de distribución se correlacionan bien con el peso corporal, y otros como la semivida de eliminación no lo hacen.

Short (1999) enfatiza que no es inusual encontrar diferencias significativas entre especies animales de similares características fisiológicas, aún cuando sean tan parecidas como las ovejas y las cabras, debidas mayormente a factores fisiológicos que pueden impactar sobre la disposición de la droga y los parámetros farmacocinéticos, tales como excreción renal activa y pasiva, pH urinario, metabolismo hepático y excreción biliar, unión a proteínas plasmáticas y tisulares, estado de hidratación, tasa metabólica, y captación y eliminación celular.

Estudios realizados en ovejas, cabras y camellos han demostrado grandes diferencias entre las pautas de distribución y actividad de las enzimas que metabolizan drogas (Elsheikh, 1997). Otros autores (Szotákova y col., 2004) trabajaron con fracciones subcelulares de cerdos, ovejas, cabras y vacas, y compararon la actividad *in vitro* de 18 enzimas que participan en la biotransformación de

xenobióticos y drogas veterinarias en estas especies. Hallaron diferencias significativas en la actividad de una misma enzima entre las distintas especies. Como dato más llamativo encontraron que las especies zoológicamente más cercana, ovejas y cabras, fueron las más distantes desde el punto de vista de la actividad *in vitro* de sus enzimas de biotransformación. Estos autores concluyeron que la extrapolación de datos obtenidos en una especie hacia otra, aún cercanamente relacionadas, puede ser engañoso.

A veces existen diferencias significativas en el comportamiento farmacocinético para una misma droga en una misma especie. Por ejemplo, en un ensayo realizado en humanos (n=272), la media aritmética del valor de aclaramiento plasmático de la levofloxacina fue de 9L/h, aunque pocos pacientes tuvieron realmente ese valor. Mientras algunos pacientes tuvieron valores de 2L/h, otros tuvieron de 17L/h (Dudley y Ambrose, 2000).

Mayores variaciones en el comportamiento farmacocinético de las drogas pueden esperarse en cerdos y aves. En estas especies las drogas antimicrobianas son comúnmente administradas mediante el alimento o el agua, y como resultado de las variaciones en la ingestión, y en la cinética de absorción y eliminación, existen variaciones marcadas en los parámetros farmacocinéticos (Aliabadi y Lees, 2000).

Es bien conocido también que las propiedades farmacocinéticas de las drogas difieren significativamente entre animales sanos y enfermos, y que las variaciones en cinética para una droga dada, en una enfermedad determinada, y en una misma especie, pueden ser pequeñas o grandes (Aliabadi y Lees, 2000).

En síntesis, parece que la norma es que existan diferencias significativas entre los parámetros farmacocinéticos de una droga entre distintas especies, y aún entre los individuos de una misma especie. A estas diferencias contribuyen también las variaciones de los valores de un mismo parámetro encontradas cuando se utilizan distintos métodos de análisis y de cálculo.

Con respecto a las fluoroquinolonas en general, y a la enrofloxacin en particular, se acepta que estas drogas tienen características farmacocinéticas similares en las distintas especies animales, cuando consideramos el tema desde una perspectiva general, vinculada a las propiedades fisicoquímicas de estas moléculas. Sin embargo, son llamativas las diferencias entre los valores de los parámetros farmacocinéticos reportados en las distintas especies, y aún en una misma especie

animal. Por ejemplo, sería razonable encontrar similitudes entre especies rumiantes pequeñas, como ovejas y cabras. Sin embargo, los trabajos realizados en estas especies demuestran grandes diferencias en los parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin, especialmente en aquellos relacionados con la fase de eliminación de la droga. En la mayoría de los trabajos publicados esas diferencias no están explicadas.

En nuestro estudio encontramos diferencias significativas en los valores de algunos parámetros farmacocinéticos en ovinos con respecto a especies similares, como por ejemplo los caprinos. En forma llamativa, es en los estudios en camellos en donde valores de los parámetros farmacocinéticos más se aproximan a los valores obtenidos en nuestro estudio. No encontramos razones para ello. No obstante, los valores son en algunos casos casi idénticos.

Lo expresado plantea la inconveniencia de extrapolar datos cinéticos de una determinada droga desde el hombre a los animales, o viceversa, o entre especies animales, aún cuando estas especies estén estrechamente relacionadas desde el punto de vista fisiológico. Debido a ello, el diseño racional de esquemas de dosificación debiera estar basado en datos generados en la especie para la cual se intenta el uso clínico de la droga, y esto justifica la realización de estudios farmacocinéticos de una droga en cada especie animal.

A las diferencias propias de cada especie en cuanto a los valores de los parámetros farmacocinéticos hay que sumarle las diferencias debidas a las distintas metodologías empleadas. Es necesario aquí decir una vez más que, cuando se trata de drogas antimicrobianas con metabolitos activos, existen diferencias significativas entre los parámetros farmacocinéticos entre ensayos que emplean métodos biológicos y aquellos que utilizan métodos cromatográficos. En el caso particular de la enrofloxacin, debe tenerse siempre en cuenta que el método biológico de análisis mide también la actividad de la ciprofloxacina, por lo cual algunos parámetros, particularmente  $C_{max}$  y ABC, son significativamente diferentes a los calculados cuando se utiliza cromatografía. Por lo tanto, las  $C_{max}$  y las ABC, y todos los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos derivados de ella, serán diferentes según si el método de análisis empleado es el microbiológico o el cromatográfico. Con los métodos microbiológicos lo que se mide es la actividad antimicrobiana total, la que resultará de la sumatoria de la enrofloxacin y su metabolito, la ciprofloxacina. En el caso del método cromatográfico, la posibilidad de cuantificar cada droga por separado nos permite obtener un área



bajo la curva para cada una de ellas, y la sumatoria de ambas. Sin embargo, en la mayoría de los estudios farmacocinéticos con enrofloxacin se informa solamente el área bajo la curva de esta droga, y no la de su metabolito, por lo cual cabe esperar que siempre sea un valor menor al hallado por el método microbiológico. Aún la sumatoria de las respectivas áreas bajo la curva correspondientes a enrofloxacin y ciprofloxacina suele ser menor a la obtenida por el método microbiológico, probablemente debido a que la ciprofloxacina tiene CIM menores para algunos microorganismos.

Nosotros informamos ambos valores, y su sumatoria, pero no podemos evaluar de este modo la actividad antimicrobiana total, ya que las concentraciones inhibitorias mínimas para cada microorganismo son distintas entre la droga madre y su metabolito. Por ello, para el cálculo de las tasas que relacionan los parámetros farmacocinéticos con los parámetros farmacodinámicos se utilizarán solamente los correspondientes a la enrofloxacin. Sin embargo, hay que tener presente que el metabolito contribuye al efecto antimicrobiano de la droga madre.

Los valores de los parámetros varían también con la metodología de análisis farmacocinético utilizada. En las comparaciones que hacemos con otros trabajos debe considerarse que los autores citados han empleado diversos métodos de análisis cinético, desde los más sencillos basados en modelos no compartimentales hasta los que utilizan regresión no lineal. Además, y específicamente para la enrofloxacin, la mayoría de los autores utilizaron modelos bicompartimentales para la vía intravascular, y monocompartimentales para las vías extravasculares. A diferencia de ellos, y basados en los criterios de discriminación de modelos, en nuestro estudio utilizamos un modelo tricompartmental para el primer caso y bicompartmental para los segundos, y obtuvimos algunos valores significativamente diferentes al reportado por otros autores para algunos parámetros. Por ejemplo, es probable que al usar un modelo tricompartmental, la fase de eliminación de la curva de cinética de la enrofloxacin tenga una menor pendiente, con una constante de eliminación  $\hat{\alpha}$  menor, y en consecuencia una mayor semivida de eliminación. Cuando calculamos la semivida de eliminación mediante métodos no compartimentales, los valores medios fueron notablemente menores.

## VI.5.7. Diferencias entre los parámetros farmacocinéticos según las vías de administración

### VI.5.7.1. Enrofloxacin

Existieron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de concentraciones plasmáticas máximas alcanzadas por la enrofloxacin luego de su administración intravenosa, intramuscular y subcutánea. Sin embargo, cuando se compararon las vías de administración en forma individual, no hubo diferencias significativas entre las vías i.m. y s.c., de lo cual se desprende, tal como era previsible, que las  $C_{max}$  obtenidas luego de la administración intravenosa son significativamente mayores que las  $C_{max}$  alcanzadas luego de la administración intramuscular y subcutánea. Cabe aclarar que no es estrictamente correcto hablar de  $C_{max}$  cuando una droga se administra en forma intravascular, pero en este caso tomamos la primer medición, a los 2.5 minutos, como  $C_{max}$  simplemente a fines de lograr una estimación aproximada de la máxima concentración que alcanza la droga cuando se inyecta por vía i.v. Este dato es útil a la hora de estimar los parámetros PK/PD, como haremos más adelante, y podemos considerar que la verdadera  $C_{max}$ , de haberla podido calcular en el mismo momento de la inyección, es mayor. Como mencionáramos más adelante, en modelos bicompartimentales  $C_{max}$  (o en realidad  $C_0$ = concentración al tiempo cero) es  $A + B$ , considerándose  $A$  al término de intersección de la fase de distribución en la ordenada y  $B$  al término de intersección de la fase de eliminación con la ordenada. En el caso de un modelo tricompartmental  $C_{max}$  o  $C_0$  sería  $A + B + P$ , sumándose los tres términos de intersección correspondientes a las tres fases cinéticas consideradas por el modelo. En el presenta caso, consideramos de mayor utilidad práctica considerar la concentración al tiempo 2.5 min.

Las diferencias entre las  $C_{max}$  intra y extravasculares son absolutamente previsibles, debido a la demora que implica la absorción de la droga desde el sitio de inyección, por eso es necesario considerar también las ABC para cada una de las vías.

No existieron diferencias significativas entre los tiempos en que se alcanzaron las  $C_{max}$  ( $T_{max}$ ) entre las vías extravasculares, aún cuando parece haber diferencias significativas entre las constantes de absorción por la vía intramuscular y subcutánea, con mayor velocidad de absorción para la última.

Sin embargo, las áreas bajo las curvas de concentración plasmática de enrofloxacin en el tiempo, tanto al tiempo de la última concentración considerada ( $ABC_{0-t}$ ) como a infinito ( $ABC_{0-\infty}$ ) fueron similares para las tres vías de administración. Este dato es importante, como discutiremos más adelante, a la hora de evaluar la eficacia antimicrobiana.

Se encontraron diferencias significativas cuando se compararon los valores de las semividas de distribución para las tres vías de administración. Cuando la comparación se hizo entre cada una de las vías de administración, las diferencias significativas se encontraron entre las vías subcutáneas e intravenosa, y entre las subcutánea e intramuscular, respectivamente, pero no entre las vías intravenosa e intramuscular. Esto deja en claro que la diferencia significativa corresponde a la vía subcutánea con respecto a las otras dos. Es a través de la vía subcutánea, a través de la cual la droga parece distribuirse más rápidamente.

Sin embargo, no se han encontrado diferencias significativas cuando se compararon los valores de los volúmenes de distribución entre las tres vías de administración. Al compararse la relación entre las microconstantes de distribución ( $K_{12}/K_{21}$ ), encontramos un valor superior a la unidad para la vía s.c., con lo cual se demuestra el rápido intercambio con los compartimientos profundos, mientras las otras dos vías generaron valores menores a la unidad.

La enrofloxacin parece eliminarse a una velocidad similar cualquiera sea la vía utilizada, lo cual es comprensible al no existir limitaciones a su absorción y distribución (fenómenos "flip-flop").

Sin embargo, aparece una clara diferencia en la pauta de distribución para la vía intravenosa cuando se utilizó regresión lineal (CSTRIP) y no lineal (ADAPT II), aún cuando la prueba no detecta diferencias estadísticamente significativas. La razón de esto puede deberse al modelo tricompartmental utilizado para la vía intravenosa, en donde la pendiente de la curva de concentración-tiempo durante la fase de eliminación es mucho menos pronunciada que en un modelo con menor número de compartimientos, o no compartimental.

Estas diferencias quedan más claras cuando se comparan los valores de semivida obtenidos por los cuatro métodos de cálculo cinético entre sí. Aparecen diferencias significativas para la vía intravenosa, y no para las otras vías, y se debe básicamente a lo que decíamos antes: la pendiente de la fase final de la curva de disposición es menos pronunciada en modelos más complejos.

De la comparación entre los métodos de cálculos cinéticos que hicimos se desprende la necesidad de ser cautos a la hora de comparar parámetros cinéticos, y considerar siempre la metodología que emplea el autor. En la discusión de los parámetros farmacocinéticos consideramos las diferencias que encontramos en nuestro trabajo entre los valores calculados por métodos sencillos y los obtenidos por modelos más complejos, que en algunos casos, como en los valores de la semivida de eliminación, pueden ser muy diferentes. Esto fue documentado por Errecalde y cols (1997), en un trabajo en que se compararon los resultados obtenidos por utilización de diferentes metodologías de cálculo para oxitetraciclina en bovinos, encontrándose que las diferencias en semivida de eliminación pueden ser de caso cinco veces entre la más corta y la más larga obtenidas con diferentes metodologías pero los mismos datos experimentales.

Podemos concluir este apartado diciendo que no hemos obtenido grandes diferencias en los valores de los parámetros cinéticos entre las distintas vías de administración, y que cualquiera de ellas que se emplee permite alcanzar valores terapéuticamente eficaces, como discutiremos más adelante, al considerar los parámetros PKyPD.

#### **VI.5.7.2. Ciprofloxacina**

Comparamos también las concentraciones plasmáticas máximas del metabolito ciprofloxacina luego de la administración, tanto intra como extravascular, de enrofloxacin. No existieron diferencias estadísticamente significativas (Kruskal-Wallis) en las  $C_{max}$  de la ciprofloxacina luego de la administración de enrofloxacin por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente. Sin embargo, cuando se observan los gráficos de caja que muestran la distribución de los valores, pareció haber una  $C_{max}$  mayor para la vía intravascular comparada con las vías intramuscular y subcutánea, las cuales por otra parte fueron prácticamente idénticas. Esta diferencia, comprobada mediante la prueba de Mann-Whitney, puede deberse a una más pronta disponibilidad de la enrofloxacin para su metabolización cuando se administra por vía intravascular.

No existieron diferencias significativas entre los valores de  $T_{max}$  para la ciprofloxacina luego de su administración intravascular y extravascular, respectivamente, aún cuando los gráficos muestran un  $T_{max}$  algo mayor para la vía intramuscular. Esto puede deberse a un menor velocidad de

absorción de la enrofloxacin por esa vía (calculada también por fórmulas), tal como mostró en la tabla 68b del apartado correspondiente a los resultados estadísticos.

Existieron diferencias significativas para el ABCtiempo entre las vía subcutánea con respecto a las otras dos. Sin embargo, esas diferencias desaparecieron cuando se compararon las ABCinfinito.

No se encontraron diferencias significativas entre los valores de constante de eliminación ni de las semividas de eliminación para el metabolito ciprofloxacina luego de la administración de enrofloxacin por las vías intra y extravasculares.

## VI.6. Del estudio en tejidos

En los ensayos que realizamos para determinar los niveles de enrofloxacin y ciprofloxacina en tejidos utilizamos siempre la vía de administración intramuscular para la enrofloxacin. Esta decisión se tomó considerando la mayor probabilidad de que se use esa vía en la práctica clínica.

Los resultados del análisis de los niveles de enrofloxacin y ciprofloxacina en tejidos nos permite arribar a algunas conclusiones. En primer lugar, confirmamos que la enrofloxacin se distribuye muy bien a los tejidos, un dato ya anticipado por los grandes volúmenes de distribución que calculamos para la enrofloxacin en los estudios de cinética plasmática.

En músculo, la concentraciones de enrofloxacin más ciprofloxacina a las seis horas fueron de casi el doble que las concentraciones promedio que medimos en plasma cuando la enrofloxacin fue administrada por la vía intramuscular (ensayo previo). A las doce horas se pudieron medir niveles de concentración de enrofloxacin-ciprofloxacina superiores a los 0.1 microgramos por gramo, cuando a ese tiempo en plasma la suma de las concentraciones de ambas drogas no superó en promedio los 0.03 µg/ml. Tal como esperábamos, las mayores concentraciones de ambas drogas en músculo se encontraron en el sitio de inyección. Aquí, las concentraciones residuales de enrofloxacin fueron superiores a los 30 µg/gr de tejido, y la suma de la droga madre y del metabolito fueron mayores a los 34 µg/g.

A las seis horas posteriores a la administración de la enrofloxacin, la suma de las concentraciones de la droga madre y su metabolito en riñón excedieron en dos veces, y en hígado en tres veces, a las concentraciones plasmáticas medidas a ese tiempo.

Estos resultados confirman que una de las principales características de las fluoroquinolonas es alcanzar en tejidos concentraciones superiores a las del plasma, y concuerda con los resultados reportados para la enrofloxacin en tejidos de bovinos (Scheer y De Jong, 1997a), equinos (Giguère y col., 1996), porcinos (Wiuff y col., 2002) y aves (Knoll y col., 1999).

Las concentraciones de enrofloxacin y ciprofloxacina halladas en músculo, hígado y riñón, a las seis y a las doce horas, se encontraron muy por encima de las concentraciones inhibitorias mínimas de ambas drogas para la mayoría de los microorganismos patógenos de los ovinos. Esto no hace más que confirmar los datos de nuestro estudio farmacocinético en plasma, el cual estima una

excelente distribución tisular de la enrofloxacin, con concentraciones plasmáticas superiores a las CIM de la mayoría de los patógenos en ovinos.

Un aspecto de particular importancia cuando se estudian los niveles residuales de drogas antimicrobianas en tejidos es la posibilidad de afectar negativamente a la salud del consumidor.

En este estudio los niveles de la droga madre y su metabolito en músculo cayeron, a las 24 horas, por debajo del Límite Máximo de Residuos (LMR) de 100 µg/kg exigidos por el Committee for Veterinary Medicinal Products (EMA, 2002) para la suma de enrofloxacin y ciprofloxacina en este tejido. En hígado y riñón se encontraron niveles residuales de ciprofloxacina, apenas superiores al LMR, hasta las 24 horas. Sin embargo, a las 48 horas no se detectó droga madre ni su metabolito en ninguno de los dos órganos.

Los resultados en tejidos coinciden parcialmente con lo reportado en bovinos por Krebber y col. (1997), luego de la administración intravenosa de enrofloxacin. Estos autores pudieron cuantificar enrofloxacin y ciprofloxacina en hígado y riñón solamente el primer día posterior a la administración de la droga madre (LQ =10 µg/kg). En músculo los niveles de ambas drogas estuvieron por debajo del límite de cuantificación ya al primer día posterior a la administración. Las bajas concentraciones del metabolito en órganos se explican porque al utilizar la vía de administración intravenosa hay menor pasaje hepático, y por ende menor tasa de metabolización de la droga madre.

Los niveles encontrados en el sitio de inyección son altos, y podrían ser un motivo de preocupación. Sin embargo, las probabilidades de que un consumidor ingiera esta parte muscular son muy bajas. Además, es extremadamente raro que un consumidor tenga una exposición crónica a estas drogas, de modo que supere la Ingesta Diaria Admisible, por ingestión de porciones de sitios de inyección (Jones, 1994; Galer y Monro, 1996). Si la Ingesta Diaria Admisible para la enrofloxacin ha sido establecida en 372 µg/persona (EMA, 2000), y encontramos 32 µg/g de enrofloxacin en el sitio de inyección a las 6 horas, más 2µg/g de ciprofloxacina, una persona debería ingerir por día más de 10 gramos de músculo en donde se inyectó la droga, inmediatamente después de la inyección, durante toda su vida, para correr riesgos.

## VI.7. La importancia del análisis farmacocinético-farmacodinámico (PK/PD)

El objetivo de la terapia antimicrobiana es administrar una droga efectiva, en suficiente concentración, y mantenida por suficiente tiempo en el sitio (o sitios) de infección, a fin de eliminar a todos los microorganismos y alcanzar la cura clínica y bacteriológica, usando un esquema de dosificación que minimice la posibilidad de emergencia de resistencias. Esto exige integrar datos farmacológicos y microbiológicos apropiados, a fin de dar un enfoque científico al diseño de esquemas de dosificación. Esto con el fin de asegurar el uso racional de las drogas antimicrobianas que garantice la eficacia clínica, y minimice la selección y diseminación de microorganismos patógenos resistentes (Lees y AliAbadi, 2002; Toutain y col., 2002).

En definitiva, el objetivo último de la terapia antimicrobiana es lograr tanto la cura sintomática como la cura microbiológica, para no dar lugar a la aparición de microorganismos resistentes (Toutain y col., 2002).

Si medimos el éxito terapéutico solamente por la respuesta sintomática, puede ocurrir un fenómeno denominado Pollyanna. Este fenómeno se refiere al hecho de que si la eficacia antibiótica se mide solamente por la respuesta sintomática, puede ocurrir que drogas y estrategias de dosificación con excelente actividad antibacteriana no sean tan eficaces como se preveía, mientras que sean efectivos antibióticos con pobre actividad aparente (Toutain y col., 2002). Es decir, puede suceder que compuestos con excelente actividad antibacteriana *in vitro* no sean eficaces como se prevee, y a la inversa, compuestos de pobre actividad antibacteriana *in vitro* sean muy eficaces desde el punto de vista clínico. Esto hace que los ensayos clínicos tengan poca sensibilidad para evaluar la eficacia antimicrobiana, y para encontrar el mejor régimen de dosificación en términos de cura bacteriológica. Dado que éstos son prerequisites para minimizar el riesgo de emergencia de resistencia, se ha buscado la utilización de otros métodos para investigar la eficacia de los antimicrobianos (Toutain y col., 2002).

Existen varias alternativas a la hora de establecer regímenes racionales y eficaces de dosificación. Para ello, es posible determinar el impacto de la exposición a la droga sobre el desarrollo microbiano tanto mediante estudios *in vitro* como *in vivo*.



Desde la introducción de las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos *in vitro* en la práctica clínica, hace varias décadas, se han realizado esfuerzos considerables para dar una interpretación de los resultados que sea relevante e informativa para clínicos, microbiólogos clínicos, epidemiólogos e investigadores. Sin embargo, a menudo existe una pobre correlación entre los resultados de los test de susceptibilidad y el éxito terapéutico, y está claro que mucho de esta falta de correlación se debe a la falta de consideración de las propiedades farmacocinéticas de las drogas en los pacientes (Dudley y Ambrose, 2000). Por otra parte, es difícil imaginar a una bacteria creciendo en forma más cómoda que en un medio de cultivo, donde cuenta con las condiciones ideales y puede desarrollar rápidamente. Por el contrario, cuando crece en un organismo vivo, las condiciones distan en general de ser favorables debido a la presencia de pH, flujos, defensas, membranas, etc. Esto hace que, en muchos casos, las bacterias crezcan *in vivo* a tasas completamente diferentes a las que siguen *in vitro*.

El enfoque tradicional para evaluar la exposición al antimicrobiano ha sido la utilización de su concentración inhibitoria mínima (CIM), un parámetro fácil de determinar pero no ideal. Las condiciones existentes en el medio artificial donde se mide la CIM no imitan a las condiciones que ocurren en los fluidos corporales *in vivo* (Lees y Aliabadi, 2000). La CIM, por ejemplo, no brinda información sobre la tasa de actividad bactericida, ni sobre los efectos inhibitorios que persisten luego de la exposición a la droga, tales como el efecto post-antibiótico (EPA), el efecto post-antibiótico sub-CIM (EPA-ESC), y el aumento de la actividad leucocitaria post-antibiótico (Craig, 1998; Müller y col., 2004a). Además, debe considerarse que la actividad antimicrobiana es un proceso dinámico, mientras que la CIM es una medida de un valor puntual con poca precisión, que brinda solamente información aproximada acerca del efecto antimicrobiano (Li, 2000; Liu y col., 2002; Müller col., 2004). A veces ni siquiera los datos de sensibilidad *in vitro* pueden ser interpretados como predictivos de una eficacia reducida *in vivo*, debido a la compleja interacción entre la farmacología y la biología (Dudley y Ambrose, 2000).

La gran mayoría de las drogas antimicrobianas usadas en medicina humana y en medicina veterinaria han sido formuladas en productos aprobados por autoridades nacionales e internacionales para ser utilizados en determinadas especies animales, y a determinadas dosis, en el tratamiento de enfermedades infecciosas específicas. En base a esto, debiéramos confiar en que las dosificaciones

han sido optimizadas para alcanzar el éxito terapéutico. Sin embargo, las guías oficiales de autoridades nacionales y supranacionales que usan las compañías para determinar los esquemas de dosificación pueden ser inadecuadas y/o desactualizadas, y hay un mayor reconocimiento de que los criterios adoptados para diseñar esquemas de dosificación para uso clínico no han sido útiles (Lees y AliAbadi, 2000; Lees y AliAbadi, 2002). A esto se suma la disminución de la sensibilidad a la enrofloxacin –y otras fluoroquinolonas- por parte de algunos microorganismos patógenos de los animales, o en algunos casos la aparición de resistencia microbiana a estas drogas. Es necesario, por lo tanto, combinar datos farmacológicos y microbiológicos, en un nuevo enfoque científico, para el diseño de esquemas de dosificación, a fin de asegurar un uso racional de las drogas antimicrobianas, (Lees y Aliabadi, 2000).

El uso racional de las drogas antimicrobianas debe basarse, además, en el conocimiento de las estructuras y de las características bioquímicas de las bacterias, y de las propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas de la droga empleada, incluyendo su mecanismo de acción y el grado de penetración a los tejidos (AliAbadi y Lees, 2000).

Para esto es necesario tener en cuenta no solamente la CIM, sino también otros factores determinantes de la eficacia de estas drogas, tales como la absorción y la distribución del fármaco, su habilidad para alcanzar los tejidos, la semivida de eliminación y la tasa de aclaramiento plasmático, entre otros. Debiera estimarse, además, la penetración al sitio de infección, la penetración a las células y la unión a proteínas tisulares (Liu y col., 2002; Scaglione, 2002).

En medicina veterinaria, sin embargo, son incipientes las bases para el uso racional de las drogas antimicrobianas mediante la integración de datos farmacocinéticos y farmacodinámicos, y están muy lejos del desarrollo alcanzado en medicina humana (Lees y AliAbadi, 2002).

Entre las formas de optimizar el uso de los antimicrobianos ha recibido el mayor énfasis la evaluación farmacocinética, y particularmente la relación farmacocinética-farmacodinamia (PK/PD). La utilización de los parámetros PK/PD ha dado muy buenos resultados, especialmente con las fluoroquinolonas, ya que ha permitido optimizar el régimen de dosificación a fin de mejorar el éxito terapéutico y reducir la selección de mutantes resistentes (Scaglione, 2002). Las relaciones PK/PD son vitales para facilitar la traducción de la actividad antibacteriana en situaciones clínicas, y garantizar que el antibiótico alcance el éxito terapéutico (Scaglione, 2002).

El objetivo de este enfoque es describir, predecir, y si es posible, comprender el curso a través del tiempo del efecto antibiótico como una función del régimen de dosificación, y ajustar los regímenes de dosificación a fin de mejorar el éxito terapéutico y reducir la selección de mutantes resistentes (Hyatt y col., 1995; Craig, 1998; Dudley y Ambrose, 2000; Li, 2000; Aliabadi y Lees, 2000; Andes y Craig, 2002; Lees y Aliabadi, 2002; Liu y col., 2002; Scaglione, 2002; Toutain y col., 2002; Müller y col., 2004a).

Los índices PK/PD más utilizados son: ABC/CIM (cociente entre el área bajo la curva de la concentración plasmática de la droga en el tiempo y la concentración inhibitoria mínima), AUIC (área bajo la curva inhibitoria, del inglés "area under inhibitory curve"),  $C_{max}/CIM$  (cociente entre la máxima concentración de la droga y la concentración inhibitoria mínima), y  $T_{>CIM}$  (porcentaje acumulado del tiempo en que la concentración de la droga está por encima de la concentración inhibitoria mínima). El término área bajo la curva de inhibición (AUIC) es empleado por algunos autores (Craig, 1998; Aliabadi y Lees, 2000; Dudley y Ambrose, 2000; Li, 2000; Toutain y col., 2002) como el ABC durante el período de tiempo en que las concentraciones del antimicrobiano están por encima de la CIM, o más sencillamente, el ABC dividida por la CIM. Mientras que otros autores, como Mouton y col. (2002), proponen reservar el índice AUIC para el área bajo la curva de los valores recíprocos de los títulos inhibitorios en suero en el tiempo, y utilizarlo como un índice distinto al anterior. Hyatt y col. sostienen que el AUIC, considerado como el área bajo la curva de los valores recíprocos de los títulos inhibitorios en suero en el tiempo, puede ser estimado por el índice ABC/CIM. Müller y col. (2004a) sostienen que, dado que es más fácil realizar el cálculo del índice ABC/CIM, y que el cálculo del AUIC no ofrece mayores ventajas al ser ambos índices idénticos cuando la concentración de la droga está por encima de la CIM, no se justifica plenamente usarlos a ambos. Para evitar confusión, nosotros utilizaremos solamente los índices  $C_{max}/CIM$ ,  $T_{>CIM}$  y ABC/CIM, y reservaremos el índice AUIC cumpliendo con su definición original.

Cuando hablamos de éxito terapéutico, es necesario recordar que existen dos requerimientos básicos para la eficacia de una droga antimicrobiana en el tratamiento de enfermedades infecciosas. En primer lugar, la concentración de la droga en el ambiente que rodea inmediatamente al microorganismo debe ser igual a la concentración bactericida mínima (CBM), o exceder la concentración inhibitoria mínima.

Tal cual fue detallado en la introducción, sabemos que las drogas antimicrobianas se pueden clasificar, en relación a su actividad farmacodinámica y en forma muy general, en dos grupos:

-Tiempo-dependientes: Aquellas cuyo efecto depende de la longitud del tiempo en que la droga está en contacto con la bacteria a concentraciones superiores a la CIM, como es el caso de los betalactámicos y macrólidos.

-Concentración-dependientes: Aquellas con las cuales la tasa de muerte microbiana aumenta con la concentración de la droga, como ocurre con los aminoglucósidos y las fluoroquinolonas.

Las drogas concentración-dependientes requieren altas concentraciones en plasma y tejidos para lograr efecto terapéutico. Por lo tanto, el índice PK/PD que mejor se correlaciona con el éxito del tratamiento con estos antimicrobianos es el cociente entre el ABC y la CIM, mientras que la prevención del desarrollo de resistencia se correlaciona mejor con una alta tasa entre la máxima concentración plasmática y la concentración inhibitoria mínima ( $C_{max}/CIM$ ), siendo menos importante para el éxito terapéutico mantener concentraciones por encima de la CIM en el tiempo. A fin de obtener la cura microbiológica debiera obtenerse tasas  $C_{max}/CIM$  de 8 o más, y tasas  $ABC/CIM$  mayores de 100, y aún de 250 en algunos casos (McKellar 1996, Aliabadi y Lees, 1997a; Craig, 1998; Aliabadi y Lees, 2000; Lees y Aliabadi, 2000; Scaglione, 2002; Müller y col., 2004; Dudley y Ambrose, 2000 Toutain y col., 2002).

Sin embargo, aún cuando tanto el índice  $C_{max}/CIM$  como el  $ABC/CIM$  son indicadores de eficacia antimicrobiana en drogas con mecanismo dependiente de la concentración, ambos son diferentes desde el punto de vista clínico, especialmente cuando se diseñan regímenes de dosificación. Para optimizar la relación  $ABC/CIM$  hay que considerar la dosis diaria total, ya sea en una o en más administraciones al día, mientras que para aumentar la tasa  $C_{max}/CIM$  es necesario elevar la cantidad de droga administrada en cada dosis (Scaglione, 2002).

En medicina veterinaria, por razones de practicidad y economía, se tiende a administrar los antimicrobianos en dosis más altas y con menor frecuencia, tanto en animales de compañía como de producción. Debe considerarse además que cuando se establece un esquema de dosificación para los animales rumiantes, ya sea con fines profilácticos, metafilácticos o terapéuticos, la droga debe

administrarse a un grupo de animales, o aún a un rodeo completo. En vista de los inconvenientes planteados con la administración oral de drogas antimicrobianas a los rumiantes, se hace necesario utilizar formulaciones inyectables, tratando de minimizar el número de administraciones diarias por razones prácticas, económicas y de bienestar animal. Dosificar más de dos veces al día (en realidad más de una) resulta antieconómico y poco práctico, además de producir estrés a los animales. Representan una excepción a eso último las vacas productoras de leche, las que por características de manejo y por la tradicional mansedumbre, pueden ser tratadas durante varios días, más de una vez por día.

Las fluoroquinolonas se caracterizan por un notable efecto post-antibiótico de hasta 8 horas de duración, por lo que no es necesario mantener concentraciones plasmáticas por encima de las CIM durante todo el período de tratamiento. Por eso, y por el mecanismo de acción dependiente de la concentración que las caracteriza, la utilización de fluoroquinolonas representa una ventaja terapéutica en el tratamiento de mayoría de las infecciones de las especies rumiantes.

La enrofloxacin y la ciprofloxacina tienen un amplio espectro de actividad, con valores de CIM que varían entre 0.008 a 0.06 µg/ml para la mayoría de los microorganismos altamente sensibles, y CIM entre 0.125 a 0.5 µg/ml para los microorganismos menos sensibles (Scheer, 1987a; Prescott y Yielding, 1990). Scheer (1987a) establece el punto de corte para sensibilidad a la enrofloxacin en 1.0 µg/ml. Bacterias con un valor de CIM de hasta 1.0 µg/ml son sensibles, mientras que organismos con  $CIM \geq 2.0$  µg/ml son considerados resistentes. Pero más tarde, el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2001) recomendó un punto de corte para la enrofloxacin de 0,5 µg/ml para microorganismos susceptibles, 1 µg/ml para susceptibilidad intermedia, y 2 µg/ml para considerar resistencia.

Se han establecido CIM para algunos de los microorganismos potencialmente patógenos para los ovinos.

Prescott y Yielding (1990) y Costa y col. (1998) informaron de una  $CIM_{90}$  0.25 µg/ml para *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

La CIM para *Staphylococcus aureus* fue establecida 0.12 µg/ml (0.03 a 1.0 µg/ml) por Scheer (1987a), 0.06 µg/ml por Wetzstein y de Jong (1996), 0.13 µg/ml por Watts y col. (1997), y 0.25 µg/ml por Salmon y col. (1998).

Watts y col. (1997) informaron de una CIM de 0.5 µg/ml para *Streptococcus agalactiae* y *S. dysgalactiae*. Sin embargo, las CIM de enrofloxacin para varias especies de *Streptococcus* son de hasta 2 µg/ml (Marshall y col., 1996; Owens y col., 1996).

Para *Pasteurella multocida* se reportaron valores medios de CIM de 0.008 µg/ml (Scheer, 1987a), 0.015 µg/ml (Prescott y Yielding, 1990; Watts y col., 1997) y 0.05 µg/ml (Yoshimura y col., 2001); y para *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* se reportó una CIM de 0.03 µg/ml (Watts y col., 1997).

Orden y col. (2001) reportaron concentraciones inhibitorias mínimas de 0.0625 µg/ml para cepas de *Escherichia coli* aisladas de ovinos.

La CIM para *Haemophilus somnus*, un agente productor de neumonía, mastitis, poliartritis, meningitis, epididimitis, orquitis y septicemia en ovinos, fue establecida en 0.015-0.03 µg/ml (McDermott y col., 2001).

Hannan y col. (1997) y Loria y col. (2003) encontraron valores de CIM de enrofloxacin en un rango comprendido entre 0.125 a 0.5 µg/ml para *Mycoplasma agalactiae*, agente productor de agalactia contagiosa y queratoconjuntivitis en ovinos.

En el tratamiento de ovejas con mastitis agudas producidas por *Staphylococcus aureus* se obtuvo una rápida restauración del órgano y la reanudación de la producción normal de leche. Loria y col. (2003) reportaron que la enrofloxacin fue el antimicrobiano más efectivo *in vitro* contra *Mycoplasma agalactiae* aislados de ovinos, con valores de CIM entre 0.125 y 0.5 µg/ml.

Si tomamos como referencia concentraciones inhibitorias mínimas de 0.05, 0.125, 0.25 y 0.50 µg/ml para microorganismos de sensibilidad muy alta, alta, media y baja a la enrofloxacin, respectivamente, podemos establecer que la mayoría de los parámetros PK/PD, obtenidos utilizando nuestros resultados, se encuentran en un nivel adecuado, o por encima de él (Tabla 79).

Tabla 79. Parámetros PK/PD para la enrofloxacin administrada en forma parenteral, a una dosis de 2.5 mg/ml, considerando CIM de 0.125, 0.25 y 0.5 µg/ml, respectivamente. Resultados obtenidos a partir de nuestros datos experimentales..

Vía de administración	ABC	C <sub>max</sub>	ABC/CIM (horas)				C <sub>max</sub> /CIM			
			0.05 µg/ml	0.125 µg/ml	0.25 µg/ml	0.50 µg/ml	0.05 µg/ml	0.125 µg/ml	0.25 µg/ml	0.50 µg/ml
Intravenosa	8.37	6.83 <sup>(*)</sup>	167.4	66.96	33.48	16.74	136.6	54.64	27.32	13.66
Intramuscular	6.80	2.31	136	54.4	27.2	13.6	46.2	18.48	9.24	4.62
Subcutánea	5.41	2.02	108.2	43.28	21.64	10.82	40.4	16.16	8.08	4.04

ABC: área bajo la curva de concentración en el tiempo en µg·h/ml; C<sub>max</sub>: concentración máxima en plasma en µg/ml  
<sup>(\*)</sup> calculada a los 2.5 minutos post-administración

Teniendo en cuenta el criterio ya expresado, según el cual debieran obtenerse tasas C<sub>max</sub>/CIM de 8 o más, y tasas ABC/CIM mayores de 100 a fin de obtener la cura microbiológica, nuestros resultados indicarían que la dosis de 2.5 mg/kg no es suficiente para la obtención de esa cura en caso de los microorganismos menos sensibles. Sin embargo, estos valores no tienen en cuenta la contribución hecha por el metabolito activo ciprofloxacina, y por lo tanto subestiman la eficacia de la enrofloxacin. Como el metabolito ciprofloxacina tiene una actividad antimicrobiana propia, y aún más potente que la enrofloxacin (Prescott y Yielding, 1990), debe considerarse que estos parámetros son aún más significativos en cuanto a la eficacia de la enrofloxacin (tabla 80).

Si consideramos que la ciprofloxacina puede representar un ABC cercana al 50 % con respecto al ABC de la enrofloxacin, que además incrementa levemente la C<sub>max</sub>, y que los microorganismos tienen generalmente una CIM menor para este antimicrobiano, podemos esperar que los parámetros de eficacia terapéutica sean aún mejores que los que describimos antes.

Ya nos hemos referido a la importancia de los efectos inhibitorios que persisten luego de la exposición a la droga, tales como el efecto post-antibiótico (EPA), el efecto post-antibiótico sub-CIM (EPA-ESC), y el aumento de la actividad leucocitaria post-antibiótico, que aumentan la eficacia de este tipo de antimicrobianos.

Tabla 80. Parámetros PK/PD para la suma de enrofloxacin y ciprofloxacina, luego de la admistración de enrofloxacina en forma parenteral, a una dosis de 2.5 mg/ml, considerando CIM de 0.125, 0.25 y 0.5 µg/ml, respectivamente. Resultados obtenidos a partir de nuestros datos experimentales..

Vía de administración	ABC	C <sub>max</sub>	ABC/CIM (horas)				C <sub>max</sub> /CIM			
			0.05 µg/ml	0.125 µg/ml	0.25 µg/ml	0.50 µg/ml	0.05 µg/ml	0.125 µg/ml	0.25 µg/ml	0.50 µg/ml
Intravenosa	9.74	6.89 <sup>(*)</sup>	194.8	77.92	38.96	19.48	137.8	55.12	27.56	13.78
Intramuscular	8.12	2.52	162.4	64.96	32.48	16.24	50.4	20.16	10.08	5.04
Subcutánea	6.25	2.23	125	50	25	12.5	44.6	17.84	8.92	4.46

ABC: área bajo la curva de concentración en el tiempo en µg·h/ml; C<sub>max</sub>: concentración máxima en plasma en µg/ml  
<sup>(\*)</sup> calculada a los 2.5 minutos post-administración

Los resultados obtenidos por otros autores que trabajaron con enrofloxacin en ovinos (Tabla 81). muestran valores menores a los nuestros para los parámetros PK/PD, aún cuando algunos de ellos consideraron los efectos de la droga madre y su metabolito activo, y parecieran confirmar lo que decimos.

Autor	Vía de administración	Método de análisis	Dosis (mg/kg)	ABC	C <sub>max</sub>	ABC/CIM (horas)			C <sub>max</sub> /CIM		
						0.125 µg/ml	0.25 µg/ml	0.50 µg/ml	0.125 µg/ml	0.25 µg/ml	0.50 µg/ml
Mengozi y col. (1996)	Intravenosa	HPLC	2.5	5.47	1.20	43.76	21.88	10.94	9.6	4.8	2.4
Pozzin y col. (1997)	Intramuscular	HPLC	2.5	10.3	1.6	82.40	41.2	20.6	12.8	6.4	3.2
Haritova y col. (2003)	Intramuscular	biológico	2.5	3.11	0.74	24.88	12.44	6.22	5.92	2.96	1.48
Mengozi y col. (1996)	Intramuscular	HPLC	2.5	4.58	0.78	36.64	18.32	9.16	6.24	3.12	1.56
Pugliese y col. (1991)	Intramuscular	biológico	2.5	2.58	0.77	20.64	10.32	5.16	6.16	3.08	1.54
Elsheikh y col. (2002)	intramuscular	biológico	5	7.87	1.29	62.96	31.48	15.74	10.32	5.16	2.58

Tabla 81. Parámetros PK/PD para la enrofloxacin administrada en forma parenteral, a una dosis de 2.5 mg/ml, considerando CIM de 0.125, 0.25 y 0.5 µg/ml, respectivamente. Resultados de otros autores.

Debe considerarse además que las fluoroquinolonas tienen una excelente penetración tisular, como lo demuestran los altos valores de los volúmenes de distribución. Por lo tanto, los valores de C<sub>max</sub> y ABC son con frecuencia mayores que en el plasma. Nuestros resultados de los ensayos en tejidos confirman en la enrofloxacin esa característica de las fluoroquinolonas.



Si bien no es el objetivo primordial de nuestro estudio establecer la eficacia de la enrofloxacin frente a determinados agentes patógenos de los ovinos, la existencia de datos de CIM *in vitro*, y la integración de datos PK/PD, nos permiten sostener que es posible alcanzar concentraciones plasmáticas eficaces contra los microorganismos patógenos más sensibles de estos animales luego de una administración parenteral de 2.5 mg/kg de este antimicrobiano. Aún teniendo en cuenta las características propias de las fluoroquinolonas, que las hacen más eficaces de lo que sus parámetros PK/PD indican, consideramos necesario realizar otros estudios que integren no solamente aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos, sino también clínicos, a fin de ajustar el régimen de dosificación. Lo que sigue son algunas consideraciones al respecto.

## VI.8. Crítica de las limitaciones de los modelos *in vitro* y propuestas para futuras investigaciones

Si bien los estudios de farmacocinética son de gran utilidad a la hora de establecer la eficacia de las drogas antimicrobianas y diseñar regímenes de dosificación, y aún más cuando integran parámetros PK/PD, varios factores deben ser tenidos en cuenta a fin de no hacer interpretaciones erróneas.

Varios autores (Lees y Aliabadi, 2000; Müller y col., 2004a; Müller y col., 2004b) sostienen que la utilización de los parámetros PK/PD basados en la CIM tienen limitaciones tanto farmacocinéticas como farmacodinámicas.

Este enfoque relaciona las concentraciones del antimicrobiano y sus efectos en base a la relación de un parámetro estático, la CIM. Ya hemos dicho que este enfoque permite tan solo una aproximación a la evaluación de la eficacia antimicrobiana, precisamente porque deja de lado las complejas relaciones entre la droga, el organismo, y el microorganismo *in vivo*.

Recientes estudios han indicado que los procesos de distribución de los antimicrobianos están caracterizados por una variabilidad entre los individuos y entre los tejidos, y que los niveles de la droga en los sitios de acción pueden diferir sustancialmente de los correspondientes niveles en plasma, estando por debajo de los niveles óptimos y conduciendo a fallas terapéuticas o a la aparición de resistencia a los antimicrobianos (Müller y col., 2004b).

Por otra parte, algunas drogas tienen metabolitos activos, y/o cuentan con efecto post antibiótico, o existen factores del paciente que colaboran con la actividad antimicrobiana, todo lo cual hace que el efecto *in vivo* sea mayor al que se determinó *in vitro* (Lees y Aliabadi, 2000).

Por lo tanto, se considera que la integración entre parámetros PK/PD es al momento un avance como metodología de diseño de regímenes de dosificación, y que tiene muchas ventajas con respecto al método tradicional, pero con las limitaciones propias de basarse en la CIM, un parámetro estático *in vitro*.

Una alternativa es la utilización de modelos PK/PD basados en curvas de muerte microbiana (Müller y col., 2004a). Estos modelos, a diferencia de aquellos modelos PK/PD basados en la CIM, permiten seguir el desarrollo y la muerte microbiana como una función del tiempo y de la concentración del antimicrobiano, y brindan una evaluación más detallada de la relación PK/PD que el

simple uso de la CIM (Müller y col., 2004a). Sin embargo, estos modelos tienen muchas de las desventajas de los modelos PK/PD basados en la CIM, y no son de fácil ejecución.

Considerando la variabilidad de los datos, tanto farmacocinéticos como fármacodinámicos, Dudley y Ambrose (2000) proponen trabajar usando simulación de Monte Carlo, en la cual los parámetros PK y las CIM son estimados no como valores simples, sino como funciones de densidad de probabilidades (FDP). Una vez que se determinan las FDP, tanto para los parámetros PK como para las CIM, un programa informático simula un gran número de escenarios de exposición a CIM. Para cada escenario se seleccionan al azar un valor simple de CIM con un valor simple de PK, cada uno con su correspondiente probabilidad, y se calculan los parámetros PK/PD para cada par de dichos valores. Cada una de esas combinaciones PK/PD simula un resultado terapéutico, esos resultados pueden ser resumidos en una distribución de probabilidades, desde la cual se puede estimar la probabilidad de un resultado terapéutico determinado. Con este enfoque es posible que algún día se informen los datos de susceptibilidad a los antimicrobianos no como "sensible", "intermedio", o "resistente", sino como la probabilidad de que un régimen de dosificación en un paciente individual obtenga parámetros PK/PD de eficacia clínica ya establecida.

Otro hecho a tener en cuenta es que la eficacia de la droga debiera ser evaluada en el sitio de infección, por lo cual sería necesario considerar no sólo la capacidad de un antimicrobiano para alcanzar los tejidos donde ejerce su acción, sino también en qué forma se encuentra en su sitio de acción.

Se sabe que únicamente la fracción de la droga no ligada a las proteínas tiene acción antimicrobiana, y por lo tanto la fracción de droga libre en el sitio de acción puede diferir mucho de la concentración total, y aún de la concentración de droga libre en el plasma (Lees y Aliabadi, 2000; Liu y col., 2002; Müller y col., 2004b). Por otra parte, los parámetros PK/PD se basan en la CIM, que expresa la eficacia de la droga libre de proteínas, una situación que generalmente no se presenta en los tejidos. Esto hace que las concentraciones plasmáticas del antimicrobiano necesarias para lograr el éxito terapéutico sean generalmente mucho mayores que las CIM determinadas *in vitro*.

Sin embargo, hasta el momento se considera que la concentración de la droga libre en el plasma es el mejor predictor (relacionado con la droga) del éxito terapéutico, aún para infecciones tisulares, principalmente para drogas de baja unión a las proteínas plasmáticas, como la mayoría de

las fluoquinolonas. En éstas, las concentraciones medidas en plasma pueden ser consideradas similares a las concentraciones de droga libre medidas en la biofase (Toutain y col., 2002).

Una alternativa para evaluar la eficacia de la droga en su sitio de acción es medir las concentraciones de las drogas en los tejidos, tal como hicimos en este estudio, aún cuando los tejidos no sean una matriz homogénea y la concentración de la droga en ellos luego de la maceración pueda ser muy diferente de la concentración en la biofase, ya sea intracelular o extracelular (Toutain y col., 2002; Müller y col., 2004b). El sitio de acción de los antimicrobianos, con unas pocas excepciones como Rickettsias y Chlamidias, es el espacio intersticial. El hecho de medir la concentración de la droga en un macerado de tejidos puede sobreestimar el efecto de aquellas drogas que se concentran dentro de la célula, como las fluoroquinolonas. A esto se suma el hecho de que habitualmente interpretamos el coeficiente de partición de la droga entre la sangre y los tejidos basándonos en el concepto de partición entre una fase lipídica y una fase acuosa según el modelo *in vitro* de Nernst, cuando en realidad no debiéramos considerar al tejido como una fase homogénea. Desde el momento en que la estructura fisiológica del tejido es destruída durante el proceso de extracción de la droga de interés, ésta interactúa con varios componentes, intra y extracelulares, en una forma no fisiológica que hace imposible discriminar *in vivo* la proporción de droga activa y de fracción ligada a proteínas (Müller y col., 2004b).

Por lo tanto, un mejoramiento a los métodos comúnmente utilizados para medir la eficacia antimicrobiana podría ser el estudio de la relación entre las concentraciones del antimicrobiano a nivel tisular (o celular) con la susceptibilidad de los microorganismos *in vitro*, donde se estimaría la penetración al sitio de infección, la penetración a las células y la unión a proteínas tisulares (Liu y col., 2002; Scaglione, 2002). Es decir, métodos mediante los cuales puedan integrarse datos farmacocinéticos con datos farmacodinámicos *in vivo*.

Varios son los métodos que nos permiten alcanzar este objetivo, siendo los más utilizados al presente el implante de blister o dispositivos intratisulares, incluyendo microdiálisis, que permiten determinar la concentración de la droga en el trasudado o exudado. Algunos investigadores han empleado estos métodos, incluyendo estudios que involucraron fluoroquinolonas (Liu y col., 2002; Aliabadi y col., 2003a; Aliabadi y col., 2003b, Greko y col., 2003; Sidhu y col., 2003).

Con la utilización de modelos de cajas tisulares, pueden recolectarse flúidos inflamatorios (exudados) y no inflamatorios (trasudados), y puede medirse la actividad antibacteriana *ex vivo*, determinando bacteriostasis, actividad bactericida o erradicación bacteriana total (Toutain y col., 2002). Otra de las razones que apoyarían la utilización de estos modelos es la propiedad de las fluoroquinolonas de tener efecto postantibiótico, ya tratado en la introducción de este trabajo. Este efecto varía también según se lo evalúe *in vitro* o en modelos de animales vivos, y a menudo su duración es mayor cuando se lo estima en animales vivos que cuando es medido *in vitro*. Esto probablemente sea debido a un efecto inhibitor por debajo de la CIM (efecto subCIM), a factores del suero, o a un menor crecimiento del microorganismo *in vivo* que en medios artificiales ricos en nutrientes (Andes y Craig, 2002).

Sin embargo, estas técnicas novedosas presentan algunas limitaciones también. Permiten medidas limitadas a un punto, no discriminan entre las fracciones libres y ligadas de la droga, son proclives a artificios debido a las diferencias en forma, tamaño, relación superficie-volumen, y a la inflamación que produce a veces la inducción de los blister (Müller y col., 2004b). Además, La medición de los niveles de la droga en flúidos recolectados, en comparación con las concentraciones en suero, podría resultar en una subestimación de la relación  $C_{\max}/CIM$ , y una sobreestimación de la duración del tiempo en que los niveles de la droga exceden la CIM (Craig, 1998).

Algunos autores (Andes y Criag, 2002) sostienen que solamente los modelos de animales vivos son capaces de determinar la actividad sobre el sitio de infección, ya que solamente de este modo puede medirse el impacto potencial de la respuesta inmune sobre la actividad antimicrobiana.

Todas estas alternativas parecen ser mejores que la simple interpretación de la eficacia antimicrobiana en base a parámetros PK/PD. Sin embargo, hay que tener en cuenta que todos estos métodos son extremadamente laboriosos, costosos, y por ende poco empleados. Aún así, podrían intentarse en trabajos de investigación cuando existan recursos humanos y financieros suficientes.

Consideramos que la tecnología que hemos utilizado en el presente trabajo, a efectos de analizar el comportamiento farmacocinético de la enrofloxacin, es una herramienta interesante a los efectos del diseño de planes de administracion adecuados y racionales. Representa además un extraordinario avance respecto a los viejos planes de administración basados en interpretaciones extremadamente subjetivas de resultados terapéuticos. Y si bien no tiene el grado de sofisticación

que los modernos estudios que utilizan modelización PK/PD, sigue siendo la herramienta más utilizada en el desarrollo de nuevas drogas y formulaciones, dando resultados sencillos, fáciles de interpretar y confiables. Seguramente los estudios basados en modelización PK/PD ocuparán un lugar importante en el desarrollo y registro de nuevos fármacos, pero aún deben perfeccionarse y simplificarse mucho antes de reemplazar a los estudios farmacocinéticos convencionales.

## VI.9. Conclusiones

Las fluoroquinolonas son un nuevo grupo de antimicrobianos sintéticos que han emergido en el mercado con la característica de tener una muy elevada eficacia para el tratamiento de las infecciones, particularmente para aquellas infecciones serias producidas por bacterias resistentes a otros antibióticos.

Estas drogas tienen propiedades farmacocinéticas muy apreciadas. Son rápidamente absorbidas luego de su administración parenteral y tienen una excelente distribución tisular. Alcanzan concentraciones en plasma y tejidos que se encuentran por encima de la CIM de los microorganismos patógenos más comunes en animales domésticos, y tienen semividas de eliminación prolongadas, que permiten administraciones espaciadas.

Sin embargo, para poder establecer un régimen racional de dosificación de enrofloxacin en cualquier especie animal es necesario conocer los parámetros farmacocinéticos obtenidos luego de la administración de la droga por varias vías. No es conveniente extrapolar datos farmacocinéticos de una especie animal a otra. Tal como lo manifestamos antes, incluso en especies aparentemente similares, como cabras y ovejas, existen diferencias sustanciales.

En este ensayo se estudió la disposición de la enrofloxacin en plasma y tejidos luego de la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea y oral a ovejas sanas.

Los datos generados en nuestro estudio demostraron que:

- 1- la enrofloxacin es rápidamente absorbida, tanto luego de la administración intramuscular como tras la administración subcutánea; alcanzando concentraciones plasmáticas máximas, y áreas bajo la curva de concentraciones plasmáticas en función del tiempo que pueden considerarse eficaces en la terapéutica antimicrobiana. Sin embargo, la absorción por vía oral es deficiente en los ovinos, y no permitiría alcanzar niveles terapéuticos;
- 2- se distribuye rápidamente y en gran magnitud a los tejidos luego de su administración parenteral;
- 3- tiene una semivida de eliminación relativamente prolongada;

- 4- los parámetros farmacocinéticos obtenidos luego de la administración de la droga por cualquiera de las vías parenterales, y los parámetros PK/PD que podemos analizar a partir de ellos, demuestran la eficacia de la enrofloxacin frente a los patógenos más comunes de la especie ovina;
- 5- las concentraciones alcanzadas en tejidos son superiores a las del plasma, y a niveles terapéuticos para la mayoría de los patógenos;
- 6- la droga madre y su metabolito caen por debajo del Límite Máximo de Residuos a las 48 horas;

Estas características hacen de la enrofloxacin una alternativa válida para la terapéutica antimicrobiana en las enfermedades infecciosas más comunes de los ovinos, sin que represente un peligro para el consumidor cuando se respeta el tiempo aconsejable de retirada.



## VII. Referencias bibliográficas

**VII - Referencias bibliográficas**

- AARESTRUP, F.M.; NIELSEN, E.M.; MADSEN, M.; ENGBERG, J. (1997) Antimicrobial susceptibility patterns of thermophilic *Campylobacter* spp. from humans, pigs, cattle, and broilers in Denmark. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **41**(10):2244-50
- AARESTRUP, F.M.; JORSAL, S.E. & JENSEN, N.E. (1998a) Serological characterization and microbiological susceptibility of *Streptococcus suis* isolates from diagnostic samples in Denmark during 1995 and 1996. *Vet. Microbiol.*, **60**(1):59-66.
- AARESTRUP, F.M. & FRIIS, N.F. (1998b) Antimicrobial susceptibility testing of *Mycoplasma hyosynoviae* isolated from pigs during 1968 to 1971 and during 1995 and 1996. *Vet. Microbiol.*, **61**(1-2):33-39.
- ABADÍA, A.R., ARAMAYONA, J.J., MUÑOZ, M.J., PLA DELFINA, J.M., SAEZ, M.P., BREGANTE, M.A. (1994). Disposition of ciprofloxacin following intravenous administration in dogs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **17**:384-388.
- ABADÍA, A.R., ARAMAYONA, J.J., MUÑOZ, M.J., PLA DELFINA, J.M., BREGANTE, M.A. (1995). Ciprofloxacin pharmacokinetics in dogs following oral administration. *J. Vet. Med.* **42**:505-511.
- ABD EL AZIZ, M.I.; AZIZ, M.A.; SOLIMAN, F.A.; AFIFY, N.A. (1997) Pharmacokinetics evaluation of enrofloxacin in chickens. *British Poultry Sci.*, **38**(2):164-168.
- ABD EL KADER, A.; ZAKIA, Z. & KHALID, B. (1995) Antibioresistance of *Escherichia coli* strains isolated in Morocco from chickens with colibacillosis. *Vet. Microbiol.*, **43**(4):325-330.
- ABRAMS-OGG, A.; HOLMBERG, D.L.; QUINN, R.F.; KELLER, C.; WILCOCK, B.P.; CLAFFEY, F.P. (2002) Blindness now attributed to enrofloxacin therapy in a previously reported case of a cat with acromegaly treated by cryohypophysectomy. *Can. Vet. J.* **43**:53-54.
- ACAR, J.F.; O'BRIEN, T.F.; GOLDSTEIN, F.W.; JONES, R.N. (1993) The epidemiology of bacterial resistance to quinolones. *Drugs*, **45**(Suppl.3):24-28.
- ADURIZ, J.; ESCOBAL, I.; SALAZAR, L.M.; CONTRERAS, A.; MARCO, J.C. (1996) Efficacy of enrofloxacin during the lactation against mastitis caused by *Mycoplasma bovis* in dairy cattle. *Proceedings of the XIX World Buiatrics Congress, Edinburgh, U.K.*, BCVA Publications.
- AHANGAR, A.H. & SRIVASTAVA, A.K. (2000) Pharmacokinetics of enrofloxacin in febrile cross-bred bovine calves. *Indian J. Pharmacol.*, **32**:305-308.

- ALARCÓN, T & LÓPEZ-BREA M. (1996) Mecanismo de acción y resistencia a fluorquinolonas. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **14**(2):111-117.
- AKAIKE, H. (1976) An information criterion (AIC). *Mathematical Science*, **14**:5-9.
- ALIABADI, F.S. & LEES, P. (1997a) Pharmacodynamic and pharmacokinetic inter-relationship of antibacterial drugs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* **20**(Suppl.1):14-17.
- ALIABADI, F.S. & LEES, P. (1997b) Pharmacodynamics of marbofloxacin in calves: evaluation in a tissue cage model. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):48-49.
- ALIABADI, F.S. & LEES, P. (2000) Antibiotic treatment for animals: effect on bacterial population and dosage regime optimisation. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **14**:307-313.
- ALIABADI, F.S.; ALI, B.H.; LANDONI, M.F., LEES, P. (2003a) Pharmacokinetics and PK-PD modelling of danofloxacin in camel serum and tissue cage fluids. *Vet. J.*, **165**:104-118.
- ALIABADI, F.S.; LANDONI, M.F.; LEES, P. (2003b) Pharmacokinetics (PK), pharmacodynamics (PD), and PK-PD integration of danofloxacin in sheep biological fluids. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **47**(2):626-635.
- ALTREUTHER, P. (1987) Data on chemistry and toxicology of Baytril® *Vet. Med. Rev.*, **2**: 87-89.
- ANADÓN, A., MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R., VELEZ, C., DÍAZ, M.J., BRINGAS, P. (1992). Pharmacokinetics of norfloxacin and its N-desethyl-metabolites and oxo-metabolites in broiler chickens. *Am. J. of Vet. Res.* **53**(11):2084-2089.
- ANADÓN, A., MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R., DÍAZ, M.J., BRINGAS, P., MARTÍNEZ, M.A., FERNANDEZ CRUZ, M.L., FERNANDEZ, M.C., FERNANDEZ, R. (1995a) Pharmacokinetics and residues of enrofloxacin in chickens. *Am. J. Vet. Res.*, **56**(4):501-506.
- ANADÓN, A., MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R., DIAZ, M.J., FERNANDEZ, R., MARTINEZ, M.A., FERNANDEZ, M.C. (1995b) Pharmacokinetics and tissue residues of norfloxacin and its N-desethyl and oxo-metabolites in healthy pigs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **18**:220-225.
- ANADÓN, A., MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R., DIAZ, M.J., FERNANDEZ-CRUZ, M.L., FREJO, M.T., FERNANDEZ, R., MORALES, M.E. (1997). Lung tissue concentrations and plasma pharmacokinetics of danofloxacin following oral administration to broiler chickens. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):197-198.

ANADÓN, A., MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R., DÍAZ, M.J., FERNANDEZ-CRUZ, M.L., MARTINEZ, M.A., FREJO, M.T., MARTÍNEZ, M., ITURBE, J.; MCALLISTER T. (1999) Pharmacokinetic variables and tissue residues of enrofloxacin and ciprofloxacin in healthy pigs. *Am. J. Vet. Res.*, **60**(11):1377-1382.

ANDERSON, V.E.; GOOTZ, T.D. & OSHEROFF, N. (1998) Topoisomerase IV catalysis and the mechanism of quinolone action. *J. Biol. Chem.* **273**(28):17879-17885.

ANDES, D. & CRAIG, W.A. (2002) Animal model pharmacokinetic and pharmacodynamics: a critical review. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **19**:261-268.

ANDRIOLE, V.T. (1991) Quinolonas. Capítulo 30, p. 348-359. En: Mandell, G.L.; Douglas, R.G. y Bennet, J.E. (Ed.). *Enfermedades Infecciosas: Principios y Prácticas*, 3era. Edición Buenos Aires, Panamericana. Tomo I, 1180 p.

ANDRIOLE, V.T. (1999) The future of the quinolones. *Drugs*, **58**(Suppl.2):1-5.

ANTON, M.R., MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R. & ANADÓN, A.(1997) Plasma disposition of fleroxacin in broiler chickens following intravenous administration. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):198-199.

ANTUNES, P.; REU, C.; SOUSA, J.C.; PESTANA, N.; PEIXE, L. (2002) Incidence and susceptibility to antimicrobial agents of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* isolated from poultry carcasses in Porto, Portugal. *J. Food Prot.* **65**(12):1888-1893.

ANTUNES, P.; REU, C.; SOUSA, J.C.; PEIXE, L. ; PESTANA, N. (2003) Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *Int. J. Food Microbiol.* **82**:97-103.

APLEY, M.D. & UPSON N, D.W. (1993) Lung tissue concentrations and plasma pharmacokinetics of danofloxacin in calves with acute pneumonia. *Am. J. Vet. Res.*, **54**:937-943.

APPELBAUM, P.C. (1991) Mechanism and frequency of resistance to temafloxacin. *Am. J. of Med.*, **91**(suppl. 6A):27s-30s.

APPELBAUM & HUNTER. (2000) The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **16**:5-15.

ARAMAYONA, J.J.; GARCÍA, M.A.; FRAILE, L.J.; ABADÍA, A.R.; BREGANTE, M.A. (1994) Placental transfer of enrofloxacin and ciprofloxacin in rabbits. *Am. J. Vet. Res.* **55**(9):1313-1318.

ARAMAYONA, J.J.; MORA, J.; FRAILE, L.J.; GARCÍA, M.A.; ABADÍA, A.R.; BREGANTE, M.A. (1996) Penetration of enrofloxacin and ciprofloxacin into breast milk, and pharmacokinetics of the drugs in lactating rabbits and neonatal offspring. *Am. J. Vet. Res.* **57**(4):547-553.

- AUCOIN, D.P. (1996) Intracellular-intraphagocytic dynamics of fluorquinolone antibiotics: a comparative review. *Suppl. Compend.Contin. Educ.Pract.Vet.* **18** (2): 9-13.
- AVRAIN, L.; HUMBERT, F.; L'HOSPITALIER, R.; SANDERS, P.; VERNOSY-ROZAND, C.; KEMPF, I. (2003) Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers: association with production type and antimicrobial use. *Vet. Microbiol.*, **96**:267-276.
- AYDIN, S.; GULTEPE, N.; YILDIZ, H. (2000) Natural and experimental infections of *Campylobacter cryaerophila* in rainbow trout: Gross pathology, bacteriology, clinical pathology and chemotherapy. *Fish Pathol.*, **35**(3):117-123.
- AYE, P.P.; ANGRICK, E.J.; MORISHITA, T.Y.; HARR, B.S. (2001) Prevalence and characteristics of *Pasteurella multocida* in commercial turkeys. *AvianDis.*, **45**(1):182-190
- BAGGOT, J.D. (1978). Some aspects of clinical pharmacokinetics in veterinary medicine. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, **1**:5-18.
- BAGGOT, J.D. (1986). Principios de farmacología clínica veterinaria. Acribia, Zaragoza (España), 236 p.
- BAILEY, T.A., SHEEN, R.S., SAMOUR, J.H., GARNER, A., HARRON, D. (1997) Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous, intramuscular and oral administration to houbara bustard (*Chlamydotis undulata macqueenii*). *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(suppl.1):204-205.
- BAILEY, T.A.; SILVANOSE, C.; WERNERY, U.; SAMOUR, J.H.; NALDO, J. (1998) Antimicrobial resistance and minimum inhibitory concentrations of bacteria isolated from bustards in the United Arab Emirates . *Avian Dis.*, **42**(4):690-697.
- BALL, H.J.; REILLY, G.A.C.; BRYSON, D.G. (1995) Antibiotic susceptibility of *Mycoplasma bovis* strains isolated in Northern Ireland. *Irish Vet. J.* **48**(9):316-318.
- BANHOLZER, E., HEINRITZI, K., STEINHAUSEN, G., SCHEER, M., PEDERSEN MÖRNER. (1997) Pharmacokinetics of enrofloxacin in slaughter pigs following different routes of administration. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(suppl.1):48.
- BARBOUR, E.K.; HAMADEH, S.; TALHOUK, R.; SAKR, W.; DARWISH, R. (1998) Evaluation of an enrofloxacin-treatment program against *Mycoplasma gallisepticum* infection in broilers *Prev. Vet. Med.* **35**(2):91-99.
- BARRASA, J.L.M.; LUPIOLA GOMEZ, P.; GONZALEZ LAMA, Z.; TEJEDOR JUNCO, M.T. (2000) Antibacterial susceptibility patterns of *Pseudomonas* strains isolated from chronic canine otitis externa. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* **47**(3):191-196.

- BAUDITZ, R. (1987a) Results of clinical studies with Baytril® in calves and pigs *Vet. Med. Rev.* **2**:122-129.
- BAUDITZ, R. (1987b) Results of clinical studies with Baytril® in poultry. *Vet. Med. Rev.* **2**:130-136.
- BAUDITZ, R. (1987c) Results of clinical studies with Baytril® in dogs and cats . *Vet. Med. Rev.* **2**:137-140.
- BAZILE-PHAM-KHAC, S.; TRUONG, Q.C.; LAFONT, P.; GUTMANN, L.; ZHOU, X.Y.; OSMAN, M.; MOREAU, N.J. (1996) Resistance to fluorquinolones in *Escherichia coli* isolated from poultry. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **40**(6):1504-1507.
- BEAM, T.R. (1994) Fluorquinolones in animal feeds. *ASM News* **60**(7):348-349.
- BEAUDIN B.A.; BROSNIKOFFA, C.A.; GRIMSRUDB, K.M.; HEFFNERA, T.M.; RENNIEA,R.P.; TALBOTA, J.A. (2002) Susceptibility of human isolates of *Salmonella typhimurium* DT104 to antimicrobial agents used in human and veterinary medicine. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.*, **42**:17–20.
- BEN ZVI, Z.; YAGIL, R.; VAN CREVELD, C.; GAVRIELLI, R.; GLICKMAN, A.; ZIV, G. (1994). Parenteral enrofloxacin and norfloxacin in normal and dehydrated camels. [poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Vet. Pharmacology and Toxicology*, Session 9: Anti-microbials and Chemotherapeutics, Edinburgh, Scotland. p. 234.
- BERMINGHAM, E.C. & PAPICH, M.G. (2002) Pharmacokinetics after intravenous and oral administration of enrofloxacin in sheep. *Am. J. Vet. Res.*, **63**(7):1012-1017.
- BERTONE, A.; TREMAINE, W.H.; MACORIS, D.G.; SIMMONS, E.J.; EWERT, K.M.; HERR, L.G.; WEISBRODE, S.E. (2000) Effect of long-term administration of an injectable enrofloxacin solution on physical and musculoskeletal variables in adult horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **217**(10):1514-1521.
- BLACKSCHULTZ, L.; COATNEY, R.W.; WARNICK, C.L.; SWIF, B. (1997) Lack of reactivation of shigellosis in naturally infected enrofloxacin-treated cynomolgus monkeys after exogenous immunosuppression . *Lab. Animal Sci.*, **47**(6):602-605.
- BOISSEAU, J. (1993) Basis for the evaluation of the microbiological risks due to drug residues in food. *Vet. Microbiol.* , **35**:187-192.
- BOLOURCHI, M.; HOVARESHTI, P. & TABATABAYI, A.H. (1995) Comparison of the effects of local and systemic dry cow therapy for staphylococcal mastitis control. *Preventive Vet. Med.*, **25**(1):63-67.
- BOWSER, P.R., WOOSTER, G.A., ST LEGER, J., BABISH, J.G. (1992) Pharmacokinetics of enrofloxacin in fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Vet. Pharm. Therap.*, **15**:62-71.

- BREGANTE, M.A., SAEZ, P.; ARAMAYONA, J.J., FRAILE, L., GARCÍA, M.A. & SOLANS, C. (1999) Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin in mice, rats, rabbits, sheep, and cows. *Am. J. Vet. Res.*, **60**(9):1111-1116.
- BREITSCHWERDT, E.B.; DAVIDSON, M.G.; AUCOIN, D.P.; LEVY, M.G.; SZABADOS, N.S.; HEGARTY, B.C.; KUEHNE, A.L.; JAMES, R.L. (1991) Efficacy of chloramphenicol, enrofloxacin, and tetracycline for treatment of experimental Rocky Mountain spotted fever in dogs. *Antimicrob. Agents Chemother.* **35** (11):2375-81.
- BRIGHTY, K.E. & GOOTZ, T.D. (1997) The chemistry and biological profile of trovafloxacin. *J. Antimicrob. Chemother.* **39**(Suppl. B):1-14.
- BROOME, R.L., BROOKS, D.L., BABISH, J.G., COPELAND, D.D., CONZELMAN, G.M. (1991) Pharmacokinetic properties of enrofloxacin in rabbits. *Am. J. of Vet. Res.* , **52**(11):1835-1841.
- BROWN, S.A. (1996) Fluorquinolones in animal health. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **19**:1-14.
- BRYSKIER, A. & CHANTOT J.F. (1995) Classification and structure-activity relationships of fluoroquinolones. *Drugs*, **49**(Suppl. 2):16-28.
- BURKHARDT, J.E.; HILL, M.A. & CARLTON, W.W. (1992) Morphologic and biochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin. *Toxicol. Pathol.* **20**(2):246-252.
- BUTAYE, P.; DUCATELLE, R.; DE BACKER, P.; VERMEERSCH, H.; REMON, J.P.; HAESEBROUCK, F. (1997) *In vitro* activities of doxycycline and enrofloxacin against European *Chlamydia psittaci* from turkeys. *Antimicrob. Agents Chemother.* **41**(12):2800-2801.
- BUTAYE, P.; DEVRIESE, L.A. & HAESEBROUCK, F. (2001) Differences in antibiotic resistance patterns of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains isolated from farm and pet animals. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**(5):1374-1378.
- BYWATER, R.J. (1991). The control of infectious diseases: chemotherapy. In: Veterinary Applied Pharmacology & Therapeutics, 5<sup>th</sup> ed., Bailliere Tindall, London.
- CABANES, A., ARBOIX, M., GARCÍA ANTON, J.M., REIG, F. (1992) Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular injection in rabbits. *Am. J. of Vet. Res.* , **53**(11):2090-2093.
- CAPUTO, J.F., BROWN, S.A. & PAPICH, M.G. (1997) Pharmacokinetics of premafloxacin following single intravenous, oral solution or oral capsule dose to healthy Beagle dogs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):60-61.

- CARBONE, M.; PENNISI, M.G.; MASUCCI, M.; DE SARRO, A.; GIANNONE, M.; FERA, M.T. (2001) Activity and postantibiotic effect of marbofloxacin, enrofloxacin, difloxacin and ciprofloxacin against feline *Bordetella bronchiseptica* isolates. *Vet. Microbiol.*, **81**:79-84.
- CATARSINI, O.; BALBO, S.M.; PUGLIESE, A.; PRATO, F. (1991) Experiences with Baytril® in sheep. *Vet. Med. Rev.*, **61**:10-12.
- CESTER, C.C.; SCHNEIDER, M. & TOUTAIN, P.L. (1996) Comparative kinetics of two orally administered fluoroquinolones in dog: Enrofloxacin versus Marbofloxacin. *Rev. Méd. Vét.* **147**(10):703-716.
- CESTER, C.C. & TOUTAIN, P.L. (1997) A comprehensive model for enrofloxacin and ciprofloxacin transformation and disposition in dog. *J. Pharm. Sci.* **86**(10):1148-1155.
- CHARLESTON, B.; GATE, J.J.; AITKEN, I.A.; STEPHAN, B. FROYMAN, R. (1998) Comparison of the efficacies of three fluoroquinolone antimicrobial agents, given as continuous or pulsed-water medication, against *Escherichia coli* infection in chickens. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**(1):83-87.
- CHEN, Z.; FUNG, K.F.; FANG, B.; SONG, Y. (1994) Antimicrobial and pharmacokinetic studies of fluorquinolones in chickens [poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Vet. Pharmacology and Toxicology*, Session 9: Anti-microbials and Chemotherapeutics, Edinburgh, Scotland. p. 209-210.
- CHRISTENSEN, J.M.; SMITH, B.B.; MURDANE, S.B.; HOLLINGSHEAD, N. (1996) The disposition of five therapeutically important antimicrobial agents in llamas. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **19**:431-438.
- CHU, D.T.W. & P. B. FERNANDES. (1989) Structure-activity relationships of the fluoroquinolones (Minireview). *Antimicrob. Agents Chemother.*, **33**(2):131-135.
- CID, D.; PIRIZ, S.; RUIZ-SANTA-QUITERIA, J.A.; VALLE, J.; GARCIA, S.; VADILLO, S.; DE LA FUENTE, R. (1994) In vitro activities of enoxacin, enrofloxacin, sparfloxacin, and ciprofloxacin against *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic lambs and kids. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **38**(10):2469-2470.
- CLOECKAERT, A. & CHASLUS-DANCLA, E. (2001) Mechanisms of quinolone resistance in *Salmonella*. *Vet. Res.*, **32**:291-300.
- CORPET, D.E. (1993) An evaluation of methods to assess the effect of antimicrobial residues on the human gut flora. *Vet. Microbiol.* , **35**: 199-212.



- CORPET, D.E. & BRUGERE, H.B. (1995) Résidus antibiotiques dans les aliments d'origine animale: conséquences microbiologiques, évaluation de la dose sans effet chez l'homme. *Rev. Méd. Vét.*, **146** (2):73-82.
- COSTA, L.R.R.; SPIER, S.J. & HIRSH, D.C.(1998) Comparative molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* of different origin. *Vet. Microbiol.* , **62**:135-143.
- COUTURIER, M., BAHASSI, E.M. & VAN MELDEREN, L..(1998) Bacterial death by DNA gyrase poisoning. *Trends in Microbiology* **6**(7):269-275.
- CUERPO, L. (1991) Impacto sobre la calidad de alimentos de origen animal. Seminario "Juicio a nuestra agricultura: hacia el desarrollo de una agricultura sostenible". Instituto de Carnes, C.I.C.V., INTA Morón. Argentina.
- CRAIG, W.A. (1998) Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin.Inf.Dis.*, **26**:1-12.
- CRUMP, B., WISE, R. & DENT, J. (1983) Pharmacokinetics and tissue penetration of ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **24**(5):784-786.
- D'ARGENIO,D.Z. & SCHUMITZKY, A. (1997) *ADAPT II User's Guide:pharmacokinetic/Pharmacodynamic Systems Analysis Software*. Biomedical Simulations Resource, Los Angeles, 1997.
- DAVENPORT, C.L.; BOSTON, R.C. & RICHARDSON, D.W. (2001) Effects of enrofloxacin and magnesium deficiency on matrix metabolism in equine articular cartilage. *Am. J. Vet. Res.*, **62**(2):160-166.
- DAYAN, A.D. 1993 Allergy to antimicrobial residues in food: assessment of the risk to man. *Vet. Microbiol.* , **35**: 213-226.
- DELAPORTE, J.; FROYMAN, R. ; GANIERE, J.P.; FLORENT, J.M. (1994) Distribution of enrofloxacin within hatching eggs during drinking water treatment with Baytril 10 % oral solution in breeder turkeys [poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Vet. Pharmacology and Toxicology*. Session 9: Anti-microbials and Chemotherapeutics, Edinburgh, Scotland. p. 235-236.
- DELLAMONICA, P. & DUNAIS, B. (1996) Tolerability of fluorquinolones. Focus on pefloxacin. *Clin. Drug Invest.*, **11**(Suppl.2):36-42.

- DELSOL, A.A.; SUNDERLAND, J.; WOODWARD, M.J.; PUMBWE, L.; PIDDOCK, L.J.V.; ROE, J.M. (2004a) Emergence of fluoroquinolone resistance in the native *Campylobacter coli* population of pigs exposed to enrofloxacin. *J. Antimicrob. Chemother.*, **53**(5):872-874.
- DELSOL, A.A.; WOODWARD, M.J. & ROE, J.M. (2004b) Effect of a 5 day enrofloxacin treatment on *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 in the pig. *J. Antimicrob. Chemother.*, **53**(2):396-398.
- DEMANUELLE, T.C.; IHRKE, P.J.; BRANDT, C.M.; KASS, P.H.; VULLIET, P.R. (1998) Determination of skin concentrations of enrofloxacin in dogs with pyoderma. *Am. J. Vet. Res.*, **59**(12):1599-1604.
- DEVER, L.A. & DERMODY, T.S. (1991) Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. *Arch. Intern. Med.* **151**:886-895.
- DEVRIESE, L.A.; BAELE, M.; VANEECHOUTTE, M.; MARTEL, A.; HAESEBROUCK, F. (2002) Identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus chromogenes* isolates from intramammary infections of dairy cows. *Vet. Microbiol.*, **87**:175-182.
- DÖLZ, J.H. (1989) Residuos de medicamentos en tejido animal: consideraciones farmacológicas y toxicológicas. *Monografías Med. Vet.* **11**(1-2):19-27.
- DOMENECH BERROZPE, J.; MARTINEZ LANAO, J & PLÁ DELFINA, J.M. Editores. (1997) Biofarmacia y farmacocinética, Volumen I: Farmacocinética Editorial Síntesis, Madrid, España, 303p.
- DOMÍNGUEZ-GIL HURLÉ, A. & SÁNCHEZ NAVARRO, A. (1988) Farmacocinética de nuevas quinolonas. *Enferm. Infec. Microbiol. Clín.*, **6**(5):72-80.
- DONG, Y.; XU, C.; ZHAO, X.; DOMAGALA, J.; DRLICA, K. (1998) Fluoroquinolone action against Mycobacteria: effects of C-8 substituents on growth, survival and resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**(11):2978-2984.
- DORFMAN, M., BARSANTI, J. & BUDSBERG, S.C. (1995) Enrofloxacin concentrations in dogs with normal prostate and dogs with chronic bacterial prostatitis. *Am. J. Vet. Res.*, **56**(3):386-390.
- DOWLING, P.M., WILSON, R.C., TYLER, J.W., DURAN, S.H. (1995) Pharmacokinetics of ciprofloxacin in ponies. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **18**:7-12.
- DRLICA, K. & ZHAO, X. (1997) DNA Gyrase, Topoisomerase IV, and the 4-Quinolones. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.*, **61**(3):377-392.
- DRLICA, K. (1999) Refining the fluorquinolones. *ASM news*, **65**(6):410-415.

- DUDLEY, M.N. (1991) Pharmacodynamics and pharmacokinetics of antibiotics with special reference to the fluoroquinolones. *Am. J. Med.*, **91**(suppl. 6A):45s-50s.
- DUDLEY, M.N. & AMBROSE, P.G. (2000) Pharmacokinetic in the study of drug resistance and establishing *in vitro* susceptibility breakpoints: ready for prime time. *Current Opinion in Microbiology*, **3**:515-521.
- DOWERS, K.L.; OLVER, C.; RADECKI, S.V.; LAPPIN, M.R. (2002) Use of enrofloxacin for treatment of large-form *Haemobartonella felis* in experimentally infected cats. *J.Am.Vet.Med.Assoc.***221**:250-253.
- DUVAL, J.M. & BUDSBERG, S.C. (1995) Cortical bone concentrations of enrofloxacin in dogs. *Am. J. Vet. Res.* , **56**(2):188-192.
- EDEL, W. (1994) *Salmonella enteritidis* eradication programme in poultry breeder flocks in The Netherlands. *Int. J. Food Microbiol*, **21**(1-2):171-178.
- EDLUND, C. & NORD, C.E. (1999) Effect of quinolones on intestinal ecology. *Drugs*, **58**(Suppl.2):65-70.
- EGWU, G.O. & ALIYUM, M. (1998) Inhibitory and mycoplasmicidal concentrations of some antibiotics on strains of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC: The causative agent of contagious bovine pleuropneumonia. *Acta Vet.Belgrade*, **48**(5-6):309-315.
- ELSHEIK, H.A. (1997) A comparative study of some drug-metabolizing enzymes in lung of Dromedary camels, Desert sheep and Nubian goats. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**:496-498.
- ELSHEIKH, H.A., TAHA, A.A.W., KHALAFALLAH, A.I., OSMAN, I.A.M. (2002) Disposition kinetics of enrofloxacin (Baytril 5%) in sheep and goats following intravenous and intramuscular injection using a microbiological assay. *Res. Vet. Sci.*, **73**:125-129.
- ELMAS, E.; YAZAR, E.; TRAS, B.; BAS, A.L.; ERYAVUZ, A. (2000) Pharmacokinetics and oral bioavailability of enrofloxacin in faunated and defaunated Angora goats. *Rev. Med. Vet.*, **151**(6):507-510.
- ELMAS, E.; TRAS, B.; KAYA, S.; BAS, A.L.; YAZAR, E.; YARSAN, E. (2001) Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous administration in Angora goats. *Can. J. Vet. Res.*, **65**(1):64-67.
- EL-SOUD, K.A. (2003) Influence of albendazole on the disposition kinetics and milk antimicrobial equivalent activity of enrofloxacin in lactating goats. *Pharmacol. Res.*, **48**:389-395.

- ENDTZ, H.P.; RUIJS, G.J.; VAN KLINGEREN, B.; JANSEN, W.H.; VAN DER REYDEN, T.; MOUTON, R.P. (1991) Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of fluorquinolones in veterinary medicine. *J. Antimicrob. Chemother.* **27**(2):199-208.
- ENGBERG, J., AARESTRUP, F.M., TAYLOR, D.E., GERNER-SMIDT P., NACHAMKINS, I. (1991). Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg. Infect. Dis.*, **7**(1):24-34
- ERRECALDE, J.O, MESTORINO, N. & MARIÑO, E.L. (1997) The effects of the method of calculation on the evaluation of the pharmacokinetic parameters of oxytetracycline after intravenous administration to calves. *Vet. Res. Comm.*, **21**:273-281.
- ERRECALDE, J.O. 2004. Uso de antimicrobianos en animales de consumo. Incidencia del desarrollo de resistencia en salud pública. ONU, FAO, Roma, 66 p.
- ESCRIBANO, E.; CALPENA, A.C.; GARRIGUES, T.M.; FREIXAS, J.; DOMENECH, J. MORENO, J. (1997) Structure-absorption relationships of a serie of 6-fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **41**(9):1996-2000.
- ESPINASSE, J. (1993) Responsible use of antimicrobials in veterinary medicine: perspectives in France. *Vet. Microbiol.* , **35**:289-301.
- EMA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for Veterinary Medicinal Products).(2002) EMA/MRL/574/99-final, Enrofloxacin (extension to sheep). <http://www.eudra.org/emea.html>.
- FAO/OMS. Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios. (1988) Evaluación de ciertos residuos de fármacos de uso veterinario en los alimentos (32o informe). Serie de Informes Técnicos, No 763, Organización Mundial de la Salud, Ginebra.
- FAO/OMS. Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios. (1989) Evaluación de ciertos residuos de fármacos de uso veterinario en los alimentos (34o informe). Serie de Informes Técnicos, No 788, Organización Mundial de la Salud, Ginebra.
- FAO/OMS. Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios. (1990) Evaluación de ciertos residuos de fármacos de uso veterinario en los alimentos (36o informe). Serie de Informes Técnicos, No 799, Organización Mundial de la Salud, Ginebra.
- FAO/OMS. Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios. (1991) Evaluación de ciertos residuos de fármacos de uso veterinario en los alimentos (38o informe). Serie de Informes Técnicos, No 815, Organización Mundial de la Salud, Ginebra.

- FEINMAN, S.E. (1998) Antibiotics in animal feed – drug resistance revisited. *ASM News*, **64**(1):24-30.
- FERA, M.T.; MAUGERI, T.L.; GIANNONE, M.; GUGLIANDOLO, C.; LA CAMERA, E.; BLANDINO, G.; CARBONE, M. (2003) In vitro susceptibility of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* to different antimicrobial agents. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **21**:488-491.
- FLAMMER, K., AUCOIN, D.P. & WHITT, D.A. (1991) Intramuscular and oral disposition of enrofloxacin in African grey parrots following single and multiple doses. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **14**:359-366.
- FDA-CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH. (1994) Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Methods, 30p.
- FDA-CENTER FOR VETERINARY MEDICINE. (1999) Validation of analytical procedures: methodology. 13p.
- FDA (2004) Code of Federal Regulations, Title 21, Vol. 6, Part 556, Sec. 556.228.
- FOSTEL, J. (1995) DNA Topoisomerases: targets for antifungal drug discovery. *ASM News*, **61**(4):168-172.
- FOURNIER, B & HOOPER, D.C. (1998) Mutations in topoisomerase IV and DNA Gyrase of *Staphylococcus aureus*: novel pleiotropic effects on quinolone and coumarin activity. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**(1):121-128.
- FRIIS, C. & NIELSEN, P. (1997) Penetration of danofloxacin into the respiratory tract tissues and secretions in healthy and *Actinobacillus pleuropneumoniae* infected pigs. *J.Vet.Pharm.Therap.*, **20** (Suppl. 1):108-110.
- FROYMAN, R.; SCHEER, M. & DE JONG, A. (1994) Serum kinetics of enrofloxacin in Pekin ducks during drinking-water medication with Baytril 10 % oral solution [Poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Vet. Pharmacology and Toxicology*. Session 9: Anti-microbials and Chemotherapeutics, Edinburgh, Scotland. p. 236.
- FTHENAKIS, G.G. (1998) Susceptibility to antibiotics of staphylococcal isolates from cases of ovine or bovine mastitis in Greece. *Small Ruminant Res.*, **28**(1):9-13.
- GABRIELSSON, J.L. & WEINER, D.L. (1999) Methodology for pharmacokinetics/pharmacodynamic data analysis. *PSTT*, **2**(6):244-252.
- GALER, D.M & MONRO, A.M. 1996. The safety assessment of drug residues at injection sites. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, **19**:312.

- GAMBLE, K.C.; BOOTHE, D.M.; JENSEN, J.M.; HEATLEY, J.J.; HELMICK, K.E. (1997) Pharmacokinetics of a single intravenous enrofloxacin dose in scimitar-horned oryx (*Oryx dammah*). *J. Zoo Wildlife Med.*, **28**(1):36-42.
- GANDOLF, A.R.; PAPICH, M.G.; BRINGARDNER, A.B., ATKINSON, M.W. (2005) Pharmacokinetics after intravenous, subcutaneous, and oral administration of enrofloxacin to alpacas. *Am. J. Vet. Res.*, **66**(5):767-771.
- GANIÈRE, J.P., PEDERSEN MÖRNER, A., DE JONG, A., MONLOUIS, J.D., RICHEZ, P (1997a) Tissue distribution of intramuscularly administered enrofloxacin and danofloxacin in pigs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):145-146.
- GANIÈRE, J.P., HERVOUET, P., DELAPORTE, J., FROYMAN, R. (1997b) Serum kinetics of enrofloxacin in chickens during continuous drinking water medication. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1): 202-203.
- GANIÈRE, J.P., MEDAILLE, C.; LIMET, A.; RUVOEN, N.; ANDRE-FONTAINE, G. (2001) Antimicrobial activity of enrofloxacin against *Staphylococcus intermedius* strains isolated from canine pyodermas. *Vet. Dermatol.*, **12**(3):171-175.
- GARCÍA OVANDO, H., LUDERS, C., GORLA, N., ERRECALDE, C., PRIETO, G. (1997a) Intravenous pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in broiler chickens. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):203-204.
- GARCÍA OVANDO, H., CHIOSTRI, E., UGNIA, L., WEYERS, A., GIACOMELLI, N. DAVICINO, R., GORLA, N. (1997b) HPLC residues of enrofloxacin and ciprofloxacin in eggs of laying hens. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):204.
- GAUNT, P.N. & PIDDOCK, L.J.V. (1996) Ciprofloxacin resistant *Campylobacter* spp. in humans: an epidemiological and laboratory study *J. Antimicrob. Chemother.*, **37**(4):747-757.
- GAVRIELLI, R.; YAGIL, R.; ZIV, G.; CREVELD, C.V.; GLIKMAN, A. (1995) Effect of water deprivation on the disposition kinetics of enrofloxacin in camels. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **18**(5),333-339.
- GELATT, K.N.; van der WOERD, A.; KETRING, K.L.; ANDREW, S.E.; BROOKS, D.E.; BIROS, D.J.; DENIS, H.M.; CUTLER, T.J. (2001) Enrofloxacin-associated retinal degeneration in cats. *Vet. Ophthalmol.*, **4**(2):99-106.
- GESCHE, E. (1986) Residuos en Carne. *Monografías Med. Vet.* **8**:28-33.
- GIBALDI, M. & PERRIER, D. (1982) Pharmacokinetics. 2da. Ed. New York, Marcel-Dekker Inc.

- GIBREEL, A.; SJÖGREN, E.; KAIJSER, B.; WRETLIND, B.; SKÖLD, O. (1998) Rapid emergence of high-level resistance to quinolones in *Campylobacter jejuni* associated with mutational changes in *gyrA* and *parC*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**(12):3276-3278.
- GIGUÈRE, S., SWEENEY, R.W. & BÉLANGER, M. (1996) Pharmacokinetics of enrofloxacin in adult horses and concentration of the drug in serum, body fluids, and endometrial tissues after repeated intragastrically administered doses. *Am. J. Of Vet. Res.*, **57**(7):1025-1030.
- GIGUÈRE, S. & BÉLANGER, M. (1997) Concentration of enrofloxacin in equine tissues after long term oral administration [short communications]. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**:402-404.
- GIGUÈRE, S., SWEENEY, R.W.; HABECKER, P.L.; LUCAS, J.; RICHARDSON, D.W. (1999) Tolerability of orally administered enrofloxacin in adult horses: a pilot study [short communications]. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **22**:343-347.
- GILES, C.J., MAGONIGLE, R.A., GRIMSHAW, T.R., TANNER, A.C., RISK, J.E., LYNCH, M.J., RICE, J.R. (1991). Clinical pharmacokinetics of parenterally administered danofloxacin in cattle. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **14**:400-410.
- GIPS, M. & SOBACK, S. (1996) Norfloxacin nicotinate pharmacokinetics in unweaned and weaned calves. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **19**:130-134.
- GIPS, M. & SOBACK S. (1997) Norfloxacin nicotinate pharmacokinetics in mastitic and healthy cows. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):25.
- GIRAUD, E.; CLOECKAERT, A.; KERBOEUF, D.; CHASLUS-DANCLA, E. (2000) Evidence for active efflux as the primary mechanism of resistance to ciprofloxacin in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **44**(5):1223-1228.
- GOLDSTEIN, E.J.C. (1987) Norfloxacin, a fluoroquinolone antibacterial agent classification, mechanism of action, and in vitro activity. *Am. J. Med.*, **82**(suppl. 6B):3-17.
- GORLA, N.; GARCÍA OVANDO, H. & LARRIPA, I. (1999) Chromosomal aberrations in human lymphocytes exposed *in vitro* to enrofloxacin and ciprofloxacin. *Toxicol. Lett.*, **104**(1-2):43-48.
- GOULD, I.M., MILNE, K. & JASON, C. (1990) Concentration-dependent bacterial killing, adaptive resistance and post-antibiotic effect of ciprofloxacin alone and in combination with gentamicin. *Drugs Experiment. Clin. Res.*, **26**:621-628.
- GREKO, C.; FINN, M.; ÖHAGEN, P.; FRANKLIN, A.; BENGTSSON, B. (2003) A tissue cage model in calves for studies on pharmacokinetic/pharmacodynamic interactions of antimicrobials. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **22**: 429-438.

- GUYONNET, J., PACAUD, M. DOISI, A., SPAVONE, F., HELLINGS, P.H. (1997) Residue depletion of flumequine after a continuous oral administration via drinking water in broilers. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):206-207.
- GYRD-HANSEN, N. & NIELSEN, P. (1994) The influence of feed on the oral bioavailability of enrofloxacin, oxytetracycline, penicillin V and spiramycin in pigs [poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Vet. Pharmacology and Toxicology*, Edinburgh, Scotland. p.242-243.
- HANNAN, P.C.T.; WINDSOR, G.D.; de JONG, A.; SCHMEER, N.; STEGEMAN, M. (1997) Comparative susceptibilities of various animal-pathogenic Mycoplasmas to fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **41**(9):2037-2040.
- HARITOVA, A., LASHEV, L. & PASHOV, D. (2003) Pharmacokinetics of enrofloxacin in lactating sheep. *Res. in Vet. Sci.*, **74**(3):241-245.
- HARRON, D.W.G., NATION, G., TINSON, A.H, DHANASEKHARAN, S., SHEEN, R. (1997) Effects of administration routes and dose on the pharmacokinetics of enrofloxacin in young and mature camels. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):54-55.
- HAWKINS, E.C.; BOOTHE, D.M.; GUINN, A.; AUCOIN, D.P.; NGYUEN, J. (1998) Concentration of enrofloxacin and its active metabolite in alveolar macrophages and pulmonary epithelial lining fluid of dogs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **21**:18-23.
- HEINEN, E., DE JONG, A. & SCHEER, M. (1997) Antimicrobial activity of fluoroquinolones in serum and tissue in turkeys. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):196-197.
- HELMICK, K.E.; BOOTHE, D.M. & JENSEN, J.M. (1997) Disposition of single-dose intravenously administered enrofloxacin in emus (*Dromaius novaehollandiae*) *J. Zoo Wildlife Med.*, **28**(1):43-48.
- HERIKSTAD, H.; HAYES, P.; MOKHTAR, M.; FRACARO, M.L.; THRELFALL, E.J.; ANGULO, F.J. (1997) Emerging quinolone-resistant *Salmonella* in the United States. *Emerg.Infect.Dis.* **3**(3):371-372.
- HOEBEN, D.; MONFARDINI, E.; BURVENICH, C.; HAMANN, J. (2000) Treatment of acute *Escherichia coli* mastitis in cows with enrofloxacin: effect on clinical signs and chemiluminescence of circulating neutrophils. *J. Dairy Res.*, **67**(4):485-502.
- HÖFFKEN, G., LODE, H., PRINZING, C., BORNER, K., KOEPPE, P.(1985) Pharmacokinetics of ciprofloxacin after oral and parenteral administration. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **27**(3):375-379.
- HOOPER, D.C. & WOLFSON, J.S. (1985) The fluoroquinolones: pharmacology, clinical uses, and toxicities in humans. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **28**(5):716-721.



HOOPER, D.C., WOLFSON, J.S., NG, E.Y., SWARTZ, M.N. (1987) Mechanisms of action of and resistance to ciprofloxacin. *Am. J. Med.*, **82**(suppl. A4):12-20.

HOOPER, D.C. (1999) Mode of action of fluoroquinolones. *Drugs*, **58**(Suppl. 2):6-10.

HOOPER, D.C.(2001) Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerging Inf. Dis.* **7**(2):337-341.

HOOPER, D.C. (2002) Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci. *Lancet Inf. Dis.* **2**:530-538.

HORIE, M., SAITO, K., NOSE, N., NAKAZAWA, H. (1994) Simultaneous determination of benfloxacin, danofloxacin, enrofloxacin and ofloxacin in chicken tissues by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatography B: biomedical applications*, **653**:69-76.

HRVACIC, B., KELNERIC, Z., SAKAR, D., ZIVKOVIC, J., KRAMARIC, M.D. (1997) Residues of enrofloxacin in chickens after oral treatment. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):316.

HSIANG, J.T. & SZU, C.F. (2000) Drug susceptibility of *Escherichia coli* isolated from poultry in Taiwan between 1997 and 1998. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.*, **26**(1):36-42.

HYATT, J.M.; MCKINNON, P.S.; ZIMMER, G.S.; SCHENTAG, J.J. 1995. The importance of pharmacokinetic/pharmacodynamic surrogate markers to outcome. Focus on antibacterial agents. *Clin. Pharmacokinet.* **28**(2):143-160.

ILHAN, Z.; GÜLHAN, T.; AKSAKAL, A. 2005. *Aeromonas hydrophila* associated with ovine abortion. *Small Rumin. Res.* (in press).

INGREY, K.T.; REN, J. & PRESCOTT, J.F. (2003) A fluoroquinolone induces a novel mitogen-encoding bacteriophage in *Streptococcus canis*. *Infect. Immunity.*, **71**(6):3028-3033.

INTORRE, L.; MENGOZZI, G.; MACCHERONI, M.; BERTINI, S.; SOLDANI, G. (1995) Enrofloxacin-theophylline interaction: influence of enrofloxacin on theophylline steady-state pharmacokinetics in the Beagle dog. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **18**:352-356.

INTORRE, L.; MENGOZZI, G.; BERTINI, S.; BAGLIACCA, M.; LUCHETTI, E.; SOLDANI, G. (1997) The plasma kinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in the Muscovy duck. *Vet. Res. Comm.*, **21**(2):127-136.

INTORRE, L.; CECCHINI, S.; BERTINI, S.; COGNETTI VARRIALE, A.M.; SOLDANI, G.; MENGOZZI, G. (2000) Pharmacokinetics of enrofloxacin in the seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, **182**:49-59.

ITURBE, J., MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R. & ANADÓN A. (1997) Bioavailability and residues of ciprofloxacin in broiler chickens. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):296.

JACOBSON, E. (1991) The desert tortoise and upper respiratory tract disease. *Tortuga Gazette*, **27**(7):2-3.

JACOBSREITSMA, W.F.; KAN, C.A. & BOLDER, N.M. (1994) The induction of quinolone resistance in *Campylobacter* bacteria in broilers by quinolone treatment. *Letters Applied Microbiol.*, **9**(4):228-231.

JANKNEGHT, R. (1990) Drug interactions with quinolones. *J. Antimicrob. Chemother.*, **26**(Suppl. D):7-29.

JONES, P.G.H. 1994. Injection site residues: not a threat to consumer of free trade. [oral communications], *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Vet. Pharmacology and Toxicology*, Edinburgh, Scotland. p. 79.

JORDAN, F.T.W.; HORROCKS, B.K. & FROYMAN, R. (1993) A model for testing the efficacy of enrofloxacin (Baytril) administered to turkey hens in the control of *Mycoplasma iowae* infection in hedges and embryos. *Avian Dis.*, **37**(4):1057-1061.

JORDAN, F.T.; FORRESTER, C.A.; RIPLEY, P.H.; BURCH, D.G. (1998) *In vitro* and *in vivo* comparisons of valnemulin, tiamulin, tylosin, enrofloxacin, and lincomycin/spectinomycin against *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Dis.*, **42**(4):738-745.

KAARTINEN, L., SALONEN, M., ÄLLI, L., PYÖRÄLÄ, S. (1995) Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous, intramuscular and subcutaneous injections in lactating cows. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **18**:357-362.

KAARTINEN, L.; PANU, S. & PYÖRÄLÄ, S. (1997a) Pharmacokinetics of enrofloxacin in horses after single intravenous and intramuscular administration. *Equine Vet. J.*, **29**(5):378-381.

KAARTINEN, L.; PYÖRÄLÄ, S.; MOILANEN, M.; RÄISÄNEN, S. (1997b) Pharmacokinetics of enrofloxacin in newborn and one-week-old calves. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**:479-482.

KAATZ, G.W. & SEO, S.M. (1997) Mechanisms of fluorquinolone resistance in genetically related strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **41**(12):2733-2737.

KAMPRANIS, S.C. & MAXWELL, A. (1998) The DNA gyrase-quinolone complex: ATP hydrolysis and the mechanism of DNA cleavage. *J. Biol. Chem.* **273**(35):22615-22626.

- KANEMATSU, E.; DEGUCHI, T.; YASUDA, M.; KAWAMURA, T.; NISHINO, Y.; KAWADA, Y. (1998) Alterations in the GyrA subunit of DNA Gyrase and the ParC subunit of DNA Topoisomerase IV associated with quinolone resistance in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**(20): 433-435.
- KIETZMANN, M., KNOLL, U. & GLÜNDER, G. (1997) Pharmacokinetics of enrofloxacin and danofloxacin in broiler chickens. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):202.
- KNOLL, U.; GLÜNDER, G. & KIETZMANN, M. (1999) Comparative study of the plasma pharmacokinetics and tissue concentrations of danofloxacin and enrofloxacin in broiler chickens. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **22**:239-246.
- KONTOS, V.I. & ATHANASIOU, L.V. (1998) Use of enrofloxacin in the treatment of acute canine ehrlichiosis. *Canine Practice*, **23**(3):10-14.
- KORDICK, D.L.; PAPICH, M.G. & BREITSCHWERDT, E.B. (1997) Efficacy of enrofloxacin or doxycycline for treatment of *Bartonella henselae* or *Bartonella clarridgeiae* infection in cats. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **41**(11):2448-55.
- KORTEN, V. & MURRAY, B.E. (1993) Impact of the fluoroquinolones on gastrointestinal flora. *Drugs*, **45**(Suppl.3):125-133.
- KREBBER, R., MENCKE, M., KLOSTERMANN, L., DE JONG, A. (1997) Residues of enrofloxacin and ciprofloxacin in milk and edible tissues of cattle after intravenous administration of enrofloxacin. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):309-310.
- KRUSE, H.; HOFSHAGEN, M.; THORESEN, S.I.; BREDAL, W.P.; VOLLSET, I.; SOLI, N.E. (1996) The antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from canine dermatitis. *Vet. Res. Comm.* **20**(3):205-214.
- KUMAR, P. & THAKUR, D.K. (2000) Efficacy of enrofloxacin in the treatment of mastitis in buffaloes. *Indian Vet. J.*, **77**(2):145-146.
- KUMAR, N.; SINGH, S.D. & JAYACHANDRAN, C. (2003) Pharmacokinetics of enrofloxacin and its active metabolite ciprofloxacin and its interaction with diclofenac after intravenous administration in buffalo calves. *Vet. J.*, **165**:302-306.
- KÜNG, K., RIOND, L. & WANNER, M. (1993) Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and oral administration of enrofloxacin in dogs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **16**:462-468.

- KYRIAKIS, S.C.; TSILOYIANNIS, V.K.; VLEMMAS, J.; LEKKAS, S. ; PETRIDOU, E.; SARRIS, K. (1997) The efficacy of enrofloxacin in-feed medication by applying different programmes for the control of post weaning oedema disease in weaned piglets. *Zentralbl. Veterinarmed [B]*, **44**(9):523-528.
- LANGSTON, V.C., SEDRISH, S. & BOOTHE, D.M. (1996) Disposition of single-dose oral enrofloxacin in the horse. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **19**:316-319.
- LAVY, E., ZIV, G. & GLICKMAN, A. (1995) Intravenous disposition kinetics, oral and intramuscular bioavailability and urinary excretion of norfloxacin nicotinate in donkeys. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **18**:101-107.
- LEES, P. & ALIABADI F.S. (2000) Rationalising dosage regimens of antimicrobial drugs: a pharmacological perspective. *J. Med.Microbiol.*, **49**:943-945.
- LEES, P. & ALIABADI F.S. (2002) Rational dosing of antimicrobial drugs: animals versus humans. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **19**:269-284.
- LEFEBVRE, H.P., DUPOUY, V., SCHNEIDER, M., LAROUTE, V., TOUTAIN, P.L. (1997) Pharmacokinetics of marbofloxacin in the renal-impaired dog. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):31-32.
- LEKEUX, P. & ART. T. (1988) Effect of enrofloxacin therapy on shipping fever pneumonia in feedlot cattle. *Vet. Record*, **123**:205-207.
- LEVINE, C.; HIASA, H. & MARIANS, K.J. (1998) DNA gyrase and topoisomerase IV: biochemical activities, physiological roles during chromosome replication, and drug sensitivities. *Biochim. Biophysica Acta*, **1400**:29-43.
- LEVY, S.B. (1992) Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **36**(4):695-703.
- LEWBART, G.; VADEN, S.; DEEN, J.; MANAUGH, C.; WHITT, D.; DOI, A.; SMITH, T.; FLAMMER, K. (1997) Pharmacokinetics of enrofloxacin in the red pacu (*Colossoma brachypomum*) after intramuscular, oral and bath administration. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**:124-128.
- LEWIS, R. J., TSAI, F.T.F. & WIGLEY, D.B. (1996) Molecular mechanisms of drug inhibition on DNA gyrase. *BioEssays*, **18**(8):661-671.
- LI, Z.; DEGUCHI, T.; YASUDA, M.; KAWAMURA, T.; KANEMATSU, E.; NISHINO, Y.; ISHIHARA, S.; KAWADA, Y. (1998) Alteration in the GyrA subunit of DNA gyrase and the ParC subunit of DNA topoisomerase IV in quinolone-resistant clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**(12):3293-3295.

- LI, R.C. (2000) New pharmacodynamic parameters for antimicrobial agents. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **13**:229-235.
- LINDENSTRUTH, H. & FROST, J.W. (1993) Enrofloxacin (Baytril®) – an alternative for official prophylaxis and treatment of psittacosis in imported psittacine birds *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **100**(9): 364-368.
- LINNEHAN, R.M.; ULRICH, R.W. & RIDWAY, S. (1999) Enrofloxacin serum bioactivity in bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, following oral administration of 5 mg/kg in whole fish. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **22**:170-173.
- LIU, Y & FUNG, K.F. (1997) Pharmacokinetics studies of ofloxacin in healthy and diseased chickens infected with *Mycoplasma gallinarum* and *E. Coli*. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):200.
- LIU, P.; MÜLLER, M. & DERENDORF, H. (2002) Rational dosing of antibiotics: the use of plasma concentrations versus tissue concentrations. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **19**:285-290.
- LIZONDO M; PONS, M; GALLARDO, M; ESTELRICH, J. (1997) Physicochemical properties of enrofloxacin. *J. Pharma. Biochem. Anal*, **15**:1845-1849.
- LLOYD, D.H.; LAMPORT, A.I.; NOBLE, W.C.; HOWELL, S.A. (1999) Fluorquinolone resistance in *Staphylococcus intermedius* (short communication). *Vet. Dermatol.*, **10**:249-251.
- LORIA, G.R.; SAMMARTINO, C.; NICHOLAS, R.A.J., AYLING, R.D. (2003) In vitro susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma agalactiae* to oxytetracycline, tylosin, enrofloxacin, spiramycin and lincomycin-spectinomycin. *Res. in Vet. Science*, **75**:3-7.
- LUO, N.; SAHIN, O.; LIN, J.; MICHEL, L.O.; ZHANG Q. (2003) In vivo selection of *Campylobacter* isolates with high levels of fluoroquinolone resistance associated with *gyrA* mutations and the function of the CmeABC efflux pump. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **47**(1):390-394.
- MAHLER, M.; STUNKEL, S.; ZIEGOWSKI, C.; KUNSTYR, I. (1995) Inefficacy of enrofloxacin in the elimination of *Pasteurella multocida* in rabbits *Lab. Animals*, **29**(2):192-199.
- MALBE, M., SALONEN, M., FANG, W., ÖÖPIK, T., JALAKAS, M., KLAASSEN, M., SANDHOLM, M. (1996) Disposition of enrofloxacin (Baytril®) into the udder after intravenous and intra-arterial injections into dairy cows. *J. Vet. Med. A*, **43**:377-386.
- MALORNY, B.; SCHROETER, A. & HELMUTH, R. (1999) Incidence of quinolone resistance over the period 1986 to 1998 in veterinary *Salmonella* isolates from Germany. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43** (9):2278-2282.

- MANCEAU, J.; GICQUEL, M.; LAURENTIE, P.; SANDERS, P. (1999) Simultaneous determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in animal biological fluids by high-performance liquid chromatography. Application in pharmacokinetic studies in pig and rabbit. *J. Chromatography B*, **726**:175-184.
- MANN, D.D. & FRAME, G.M. (1992) Pharmacokinetic study of danofloxacin in cattle and swine. *Am. J. Vet. Res.*, **53**(6):1022-1026.
- MARIANS, K.J & HIASA, H. (1997) Mechanism of quinolone action: a drug-induced structural perturbation of the DNA precedes strand cleavage by topoisomerase IV. *J. Biol. Chem.* **272**(14):9401-9409.
- MARSHALL, S.A.; JONES, R.N.; WANGER, A.; WASHINGTON, J.A.; DOERN, G.V.; LEBER, A.L.; HAUGEN T.H. (1996) Proposed MIC quality control guidelines for national committee for clinical laboratory standards susceptibility test using seven veterinary antimicrobial agents: ceftiofur, enrofloxacin, florfenicol, penicillin G-nobobiocin, pirlimycin, premafloxacin, and spectinomycin. *J. Clin. Microbiol.* **34**(8): 2027-2029.
- MARTÍN, R; HERNANDEZ, P.E. & SANZ, B. (1992) Revisión: residuos de tratamientos veterinarios y salud pública. *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.*, **32**(5):461-480
- MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R.; DIAZ, M.J.;BRINGAS, P.;FERNANDEZ, M.C., FERNANDEZ CRUZ, M.L.;MARTÍNEZ, M.A.;ANADÓN, A. (1994) Bioavailability and residues of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in broiler chickens. [poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Vet. Pharmacology and Toxicology*, Session 9: Anti-microbials and Chemotherapeutics, Edinburgh, Scotland. p. 238.
- MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R., DIAZ, M.J., MARTÍNEZ, M.A., FREJO, M.T., BRINGAS, P., ANADÓN, A. (1997a) Bioavailability of enrofloxacin after subcutaneous administration in cattle. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):52.
- MARTÍNEZ LARRAÑAGA, M.R., DIAZ, M.J., FERNANDEZ CRUZ, M.L., FREJO, M.T., FERNANDEZ, R., FERNANDEZ, M.C., SEVIL, B., ANADÓN, A. (1997b) Pharmacokinetics of marbofloxacin in broiler chickens after intravenous administration. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):197.
- MARTINEZ-MARTINEZ, L.; PASCUAL, A.; & JACOBY, G.A. (1998) Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*, **351**:797-799.
- MARTINSEN, B.; OPPEGAARD, H.; WICHSTROM, R.; MYHR, E. (1992) Temperature-dependent in vitro antimicrobial activity of four 4-quinolones and oxytetracycline against bacteria pathogenic to fish. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **36**(8):1738-1743.

MATEU-DE-ANTONIO, E.M. & MARTÍN, M. (1995) In vitro efficacy of several antimicrobial combinations against *Brucella canis* and *brucella melitensis* strains isolated from dogs . *Vet. Microbiol.* , **45**(1):1-10.

McDERMOTT, P. F. ; BARRY, A. L.; JONES, R. N.; STEIN, G. E.; THORNSBERRY, C., WU; C. C.; WALKER, R. D. (2001) Standardization of broth microdilution and disk diffusion susceptibility tests for *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Haemophilus somnus*: quality control standards for ceftiofur, enrofloxacin, florfenicol, gentamicin, penicillin, tetracycline, tilmicosin, and trimethoprim-sulfamethoxazole. *J. Clin. Microbiol.*, **39**(12):4283–4287.

McDERMOTT, P.F.; BODEIS, S.M.; ENGLISH, L.L.; WHITE, D.G.; WALKER, R.D.; ZHAO, S.; SIMJEE, S.; WAGNER, D.D. (2002) Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. *J. Infect. Dis.*, **185**:837-840.

McKELLAR, Q.A. (1996) Clinical relevance of the pharmacologic properties of fluorquinolones. *Suppl. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, **18**(2):14-21.

McKELLAR, Q.A., GIBSON, I., MONTEIRO, A., BREGANTE, M. (1997) Pharmacokinetics study comparing enrofloxacin and danofloxacin in calves. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):23-24.

McKELLAR, Q.A., GIBSON, I., MONTEIRO, A., BREGANTE, M. (1999) Pharmacokinetics of enrofloxacin and danofloxacin in plasma, inflammatory exudate, and bronchial secretions of calves following subcutaneous administration. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**(8):1988-1992.

MENGOZZI, G., INTORRE, L., BERTINI, S., SOLDANI, G. (1996) Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and intramuscular administration in sheep. *Am. J. Vet. Res.* , **57**(7):1040-1043.

MENSCHIK, M.; NEUMÜLLER, J.; STEINER, C.W.; ERLACHER, L.; KÖLLER, M.; ULLRICH, R.; GRANINGER, W.; GRANINGER, W.B. (1997) Effects of ciprofloxacin and ofloxacin on adult human cartilage in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.* **41**(11):2562-2565.

MENZIES, F.D.; McBRIDE, S.H.; McDOWELL, S.W.; McCOY, M.A.; MCCONNELL, W.; BELL, C. (2000) Clinical and laboratory findings in cases of toxic mastitis in cows in Northern Ireland. *Vet. Rec.*, **147**(5):123-128.

MONLOUIS, J.D., DE JONG, A., LIMET, A., RICHEZ, P. (1997) Plasma pharmacokinetics and urine concentrations of enrofloxacin after oral administration of enrofloxacin in dogs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):61-63.

MONTGOMERY, D.; PECK, E.; VINING, G. (2004) Introducción al Análisis de Regresión Lineal. Compañía Editorial Continental, Mexico. Primera Reimpresión. Pág. 198

- MOUTON, J.W.; DUDLEY, M.N.; CARS, O.; DERENDORF, H.; DRUSANO, G.L. (2002) Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PF/PD) terminology for anti-infective drugs. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **19**:355-358.
- MÜLLER, M.; De la PEÑA, A.; DERENDORF, H. (2004a) Issues in pharmacokinetics and pharmacodynamics of anti-infective agents: kill curves versus MIC. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48**(2):369-377.
- MÜLLER, M.; De la PEÑA, A.; DERENDORF, H. (2004b) Issues in pharmacokinetics and pharmacodynamics of anti-infective agents: distribution in tissues. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48**(5):1441-1453.
- MUÑOZ, M.J., LLOVERÍA, P., SANTOS, M.P., ABADÍA, A.R., ARAMAYONA, J.J., BREGANTE, M.A. (1996) Pharmacokinetics of ciprofloxacin in sheep after single intravenous or intramuscular administration. *Vet. Quarterly*, **18**(2):45-48.
- NAKAMURA, S. (1995) Veterinary use of new quinolones in Japan. *Drugs*, **49**(Suppl. 2):152-158.
- NCCLS. (2001) Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Approved standard M31-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA.
- NEER, T.M. (1988) Clinical pharmacologic features of fluoroquinolone antimicrobials drugs. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, **193**(5):577-580.
- NELDER, J. & MEAD, R. (1965) A Simplex method for function minimization. *Computer J.* **4**:308-313.
- NENORTAS, E.; BURRI, C.; & SHAPIRO, T.A. (1999) Antitrypanosomal activity of fluorquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**(8):2066-2068.
- NEU, H.C. (1988) Quinolones, a new class of antimicrobial agents with wide potential uses. *Med. Clin. North Am.*, **72**:623-636.
- NIELSEN, P. (1997) The influence of feed on the oral bioavailability of antibiotics/chemotherapeutics in pigs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):30-31.
- NIELSEN, P. & GYRD-HANSEN, N. (1997) Bioavailability of enrofloxacin after oral administration to fed and fasted pigs. *Pharmacol. Toxicol.* **80**(5):246-250.
- NORD, C.E. (1995) Effect of quinolones on the human intestinal microflora. *Drugs*, **49**(Suppl.2):81-85.



- OKERMAN, L.; DEVRIESE, L.A.; GEVAERT, D.; UYTTEBROEK, E.; HAESEBROUCK, F. (1990). *In vivo* activity of orally administered antibiotics and chemotherapeutics against acute septicaemic pasteurellosis in rabbits. *Lab. Anim.*, **24**(4):341-344.
- OLCHOWY, T.W.; TERHUNE, T.N. & HERRICK, R.L. (2000) Efficacy of difloxacin in calves experimentally infected with *Mannheimia haemolytica*. *Am.J.Vet.Res.*, **61**(6):710-713.
- OPPEGAARD, H. & SORUM, H. (1994). GyrA mutations in quinolone-resistant isolates of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **38**(10):2460-2464.
- ORDEN, J.A.; RUIZ-SANTA-QUITERIA, J.A.; GARCIA, S.; CID, D.; DE LA FUENTE, R. (1999) In vitro activities of cephalosporins and quinolones against *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic dairy calves. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**(3):510-513.
- ORDEN, J.A.; RUIZ-SANTA-QUITERIA, J.A.; CID, D.; DIEZ, R.; MARTINEZ, S.; DE LA FUENTE, R. (2001) Quinolone resistance in potentially pathogenic and non-pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from healthy ruminants. *J. Antimicrob. Chemother.*, **48**:421-424.
- ORTIZ, A.; FROYMAN, R. & KLEVEN, S.H. (1995) Evaluation of enrofloxacin against egg transmission of *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Dis.*, **39**(4):830-836.
- OWENS, W.E.; RAY, C.H.; WATTS, J.L.; YANCEY, R.J. (1996) Comparison of success of antibiotic therapy during lactation and results of antimicrobial susceptibility tests for bovine mastitis. *J. Dairy Sci.* **80**(2):313-317.
- PASCUAL, A. y GARCÍA, I. 1998. Penetración y actividad intracelular de las fluorquinolonas. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **16** (3):138-143.
- PEDERSEN, K & WEDDERKOPP, A. (2003) Resistance to quinolones in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Danish broilers at farm level. *J. Applied Microbiol.*, **94**:111-119.
- PELLERIN, J.L.; BOURDEAU, P.; SEBBAG, H. PERSON, J.M. (1998) Epidemiological surveillance of antimicrobial compound resistance of *Staphylococcus intermedius* clinical isolates from canine pyodermas. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **21**(2):115-133.
- PETERS, J.; MAC, K.; WICHMANN-SCHAUER, H.; KLEIN, G.; ELLERBROEK, L. (2003) Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany. *Int. J. Food Microbiol.*, **88**:311-314.
- PEZZOTTI, G.; SERAFIN, A.; LUZZI, I.; MIONI, R.; MILAN, R.; PERIN, R. (2003) Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. *Int. J. Food Microbiol.*, **82**:281-287.

- PIDDOCK, L.J.V.; WRAY, C.; MCCLAREN, I.; WISE, R. (1990) Quinolone resistance in *Salmonella* spp.: veterinary pointers. *Lancet*, **336**:125.
- PIDDOCK, L.J.V. (1999a) Mechanism of fluoroquinolone resistance: an update 1994-1998. *Drugs*, **58**(suppl.2):11-18.
- PIDDOCK, L.J.V. (1999b) Quinolone resistance and *Campylobacter*. *Clin. Microbiol. Infect.*, **5**(5):239-243.
- PIDDOCK, L.J.V. (2002) Fluoroquinolone resistance in *Salmonella* serovars isolated from humans and food animals. *FEMS Microbiol. Rev.*, **26**:3-16.
- PIJPERS, A., HEINEN, E., DE JONG, A., VERHEIJDEN, J.H.M. (1997) Enrofloxacin pharmacokinetics after intravenous and intramuscular administration in pigs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):42-43.
- PIRIZ, S.; VALLE, J.; MATEOS, E.M.; DE LA FUENTE, R.; CID, D.; RUIZ-SANTAQUITERIA, J.A.; VADILLO, S. (1996) *In vitro* activity of fifteen antimicrobial agents against methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus intermedius*. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **19**:18-123.
- POSYNIAK, A.; ZMUDZKI, J.; SEMENIUK, S.; NIEDZIELSKA, J.; ELLIS, R. (1999) Determination of fluoroquinolone residues in animal tissues by liquid chromatography. *Biomed. Chromatograp.*, **13**:279-285.
- POZZIN, O., HARRON, D.W.G., NATION, G., TINSON, A.H., SHEEN, R., DHANASEKHARAN, S. (1997) Pharmacokinetics of enrofloxacin following intravenous/intramuscular/oral administration in Nedji sheep. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):60.
- POOLE, K. (2000) Efflux-mediated resistance to fluoroquinolone in Gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**(9):2233-2241.
- PRABHAKAR, T.G.; DORAIRAJAN, N.; SWAMINATHAN, R.; SIVAKUMAR, S. (1998) Antibiotic sensitivity pattern of *Haemophilus* species from infectious coryza in Namakkal. *Indian J. Anim. Sci.*, **68**(9):888-889.
- PRESCOTT, J.F. & YIELDING, K.M. (1990) *In vitro* susceptibility of selected veterinary bacterial pathogens to ciprofloxacin, enrofloxacin and norfloxacin. *Can. J. Vet. Res.*, **54**:195-197.
- PRESCOTT, J.F. & DESMOND BAGGOT, J. (1991) *Terapéutica antimicrobiana veterinaria*. Acribia, Zaragoza, España, 414 p.

- PREZANT, R.M.; ISAZA, R. & JACOBSON, E.R. (1994) Plasma concentrations and disposition kinetics of enrofloxacin in Gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*) *J. Zoo Wildlife Med.*, **25**(1):82-87.
- PUGLIESE, A.; NACCARI, F.; PIZZIMENTI, F.C.; NIUTTA, P.P.; PAGANO, A.; ALONZO, V.; CATARSINI, O. (1991) Farmacocinetica di enrofloxacin negli ovini. *Obiettivi Documenti Veterinari*, **12**(12):51-54.
- PYÖRÄLÄ, S.; PANU, S. & KAARTINEN, L. (1994a) Single-dose pharmacokinetics of enrofloxacin in horses [poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Vet. Pharmacology and Toxicology*, Edinburgh, Scotland. p. 45-46.
- PYÖRÄLÄ, S. (1994b) Local tissue damage in cows after intramuscular injections of eight antimicrobial agents. *Acta Vet. Scand.*, **35**:107-110.
- PYÖRÄLÄ, S.; HANNA, K.; & PYÖRÄLÄ, E.O. (1998) Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows:487 cases (1989-1995). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **212**(3):407-412.
- RAMESH, S.; RAO, G.S. & MALIK, J.K. (2002) Pharmacokinetic disposition of subcutaneously administered enrofloxacin in goats. *Vet. Res. Comm.*, **26**(7):563-569.
- RAO, G.S.; RAMESH, S.; AHMAD, A.H.; TRIPATHI, H.C.; SHARMA, L.D.; MALIK, J.K. (2000) Effects of endotoxin-induced fever and probenecid on disposition of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravascular administration of enrofloxacin in goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, **23**(6),365-372.
- RAO, G.S.; RAMESH, S.; AHMAD, A.H.; TRIPATHI, H.C.; SHARMA, L.D.; MALIK, J.K. (2001) Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intramuscular administration of enrofloxacin in goats. *Vet. Res. Comm.*, **25**:197-204.
- RAO, G.S.; RAMESH, S.; AHMAD, A.H.; TRIPATHI, H.C.; SHARMA, L.D.; MALIK, J.K. (2002a) Disposition kinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin following intravenous administration of enrofloxacin in goats. *Small Ruminant Res.*, **44**:9-15
- RAO, G.S.; RAMESH, S.; AHMAD, A.H.; TRIPATHI, H.C.; SHARMA, L.D.; MALIK, J.K. (2002b) Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in goats given enrofloxacin alone and in combination with probenecid. *Vet. J.*, **163**(1):85-93.
- RAPHAEL, B.L.; PAPICH, M. & COOK, R.A. (1994) Pharmacokinetics of enrofloxacin after a single intramuscular injection in Indian star tortoises (*Geochelone elegans*). *J. Zoo Wildlife Med.*, **25**(1):88-94.

- RICHEZ, P.; DELLAC, B. & FROYMAN, R. (1994a) Pharmacokinetics and bioavailability of enrofloxacin in pigs after single and repeated in-feed medication with Baytri I.E.R. 2,5 %<sup>®</sup> [comunicación oral]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Vet. Pharmacology and Toxicology*. Session 9: Anti-microbials and Chemotherapeutics, Edinburgh, Scotland. p. 207.
- RICHEZ, P.; DELLAC, B.; FROYMAN, R.; DE JONG, A. (1994b) Pharmacokinetics of enrofloxacin in calves and adult cattle after single and repeated subcutaneous injections [poster communications]. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Vet. Pharmacology and Toxicology*. Session 9: Anti-microbials and Chemotherapeutics, Edinburgh, Scotland. p. 232-234.
- RICHEZ, P., PEDERSEN MÖRNER, A., DE JONG, A., MONLOUIS, J.D. (1997a) Plasma pharmacokinetics of parenterally administered danofloxacin and enrofloxacin in pigs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):41-42.
- RICHEZ, P., MONLOUIS, J.D., DELLAC, D., DAUBE, G. (1997b) Validation of a therapeutic regimen for enrofloxacin in cats on the basis of pharmacokinetic data. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):152-153.
- RIVIERE, J. (1991) Pharmacologic principles of residue avoidance for veterinary practitioners. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, **198**(5):809-816.
- ROGSTAD, A.; HORMAZABAL, V. & YNDESTAD, M. (1991) Extraction and high performance liquid chromatographic determination of enrofloxacin in fish serum and tissues. *J. Liq.Chromatog.*, **14**(3):521-531.
- ROQUE, A.; MOLINA AJA, A.; BOLÁN MEJÍA, C.; GOMEZ GIL, B. (2001) In vitro susceptibility to 15 antibiotics of vibrios isolated from penaeid shrimps in Northwestern Mexico. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **17**:383-387.
- ROLINSKI, Z., KOWALSKI, C. & WLAZ, P. (1997) Distribution and elimination of norfloxacin from broiler chicken tissues and eggs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):200-201.
- ROSE, M.D., BYGRAVE, J., & STUBBINGS, G.W.F. (1998) Extension of multi-residue methodology to include the determination of quinolones in food. *Analyst*, **123**:2789-2796.
- SADIEK, A. (1996) Effects of orally administered enrofloxacin (Baytril<sup>®</sup>) on the ruminal functions of adult cattle (*in vivo*). *Assiut Vet. Medical J.*, **35**(70):114-129.
- SÁENZ, Y.; ZARAZAGA, M.; LANTERO, M.; GASTAÑARES, M.J.;BAQUERO, F.; TORRES, C. (2000) Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals, foods, and human in Spain in 1997-1998. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **44**(2):267-271.

- SALMON, S.A.; WATTS, J.L.; CASE, C.A.; HOFFMAN, L.J.; WEGENER, H.C.; YANCEY, Jr. R.J. (1995) Comparison of MICs of ceftiofur and other antimicrobial agents against bacterial pathogens of swine from the United State, Canada, and Denmark. *J. Clin. Microbiol.* **33**(9):2435-2444.
- SALMON, S.A.; WATTS, J.L.; AARESTRUP, F.M.; PANKEY, J.W.; YANCEY, Jr. R.J. (1998) Minimum inhibitory concentrations for selected antimicrobial agents against organisms isolated from the mammary glands of dairy heifers in New Zealand and Denmark. *J. Dairy Science*, **81**:570-578.
- SALMON, S.A. & WATTS, J.L. (2000) Minimum inhibitory concentration determinations for various antimicrobial agents against 1570 bacterial isolates from turkey poults. *Avian Dis.*, **44**(1):85-98.
- SAN MARTÍN, N.B., BATAGLIA, J., NUÑEZ, CH., HERRERA, P., ROMERO, J.P. (1997) Pharmacokinetic studies and withdrawal times of norfloxacin in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):210.
- SCAGLIONE, F. 2002. Can PK/PD be used in every clinical practice. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **19**:349-353.
- SCHEER, M. (1987a) Studies on the antibacterial activity of Baytril® *Vet. Med. Rev.* Nro.2:90-99.
- SCHEER, M. (1987b) Concentrations of active ingredient in the serum and in tissue after oral and parenteral administration of Baytril® *Vet. Med. Rev.* Nro.2:104-118.
- SCHEER, M.; PIRRO, F. & SCHMEER, N. (1996) Baytril® IER 2.5 % - A new formulation for the oral application on swine – Antibacterial activity, pharmacokinetic and bioavailability. *Tierärztliche Umschau*, **51**(8):489.
- SCHEER, M. & DE JONG, A. (1997a) Concentrations of fluoroquinolones in intestinal tract tissues after intramuscular administration to calves. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):50-51.
- SCHEER, M. & DE JONG, A. (1997b) Antimicrobial activity in the digestive tract of broiler chickens treated orally with enrofloxacin. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):201-202.
- SCHOEVERS, E.J.; van LEENGOED, L.A.M.G.; VERHEIJDEN, J.H.M., NIEWOLD, T.A. (1999) Effects of enrofloxacin on porcine phagocytic function. *Antimicrob. Agents and Chemother.* **43**(9):2138-2143.
- SCHONING, G. & PLONAIT, H. (1990). Metaphylaxis and therapy of the MMA syndrome of sows with Baytril. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* **97**(1):5-10.
- SEDMAN, A.J. & WAGNER, J.G. (1976) CSTRIP a FORTRAN IV computer programme for obtaining initial polyexponential parameters estimates. *J. Pharm. Sci.*, **65**:1006-1010.

- SEO, K.H.; HOLT, P.S.; GAST, R.K.; HOFACRE, C.L. (2000a) Elimination of early *Salmonella enteritidis* infection after treatment with competitive-exclusion culture and enrofloxacin in experimentally infected chickens. *Poultry Sci.*, **79**(10):1408-1413.
- SEO, K.H.; HOLT, P.S.; GAST, R.K.; HOFACRE, C.L. (2000b) Combined effect of antibiotic and competitive exclusion treatment on *Salmonella enteritidis* fecal shedding in molted laying hens. *J. Food Prot.*, **63**(4):545-548.
- SEOL, B.; NAGLIC, T.; MADIC, J.; BEDEKOVIC, M. (2002) In vitro antimicrobial susceptibility of 183 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from dogs to selected antipseudomonal agents. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health*, **49**(4):188-92
- SHARMA, P.K., AHMAD, A.H.; SHARMA, L.D.; 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. *Vet. J.*, **166**:101-104.
- SHEM-TOV, M., RAV-HON, O., ZIV, G., GLICKMAN, A., SARAN, A. (1997) Pharmacokinetics and penetration of danofloxacin from blood into the milk of cows. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):49-50.
- SHEN, L.L., MITSCHER, L.A., SHARMA, P.N., O'DONNELL, T.J., CHU, D.W.T., COOPER, C.S., ROSEN, T., PERNET, A.G. (1989) Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: a cooperative Drug-DNA binding model. *Biochemistry*, **28**(9):3886-3894.
- SHIMADA, h. & ITOH, S. (1996) Effects of new quinolone antibacterial agents on mammalian chromosomes. *J. Toxicol. Environm. Health*, **47**:115-123.
- SHLOSBERG, A.; ERSHOV, E.; BELLAICHE, M.; HANJI, V.; WEISMAN, Y.; SOBACK, S. (1997) The inhibitory effects of the fluorquinilone antimicrobials norfloxacin and enrofloxacin on hepatic microsomal cytochrome P-450 monooxygenases in broiler chickens *Drug Metabol. Drug Interac.*, **14**(2):109-122.
- SHORT, C.R. 1999. Comparative pharmacokinetics-sorting the sheep from the goats. *Vet. J.*, **158**:159-161.
- SIDHU, P.; ALIABADI, F.S.; ANDREWS, M.; LEES, P. (2003) Tissue chamber model of acute inflammation in farm animal species. *Res. Vet. Sci.*, **74**:67-77.
- SMITH, I.M.; MACKIE, A. & LIDA, J. (1991). Effect of giving enrofloxacin in the diet to pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet. Rec.*, **129**(2):25-29.

SPAVONE, F.; WOEHRLE, F.; GUICHARD, Y.; THIBAUD, D.; BARDON, T. (1997) *In vivo* study of flumequine toxicity on juvenile canine cartilage. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):257-258.

SPEAKMAN, A.J.; BINNS, S.H.; DAWSON, S.; HART, C.A.; GASKELL, R.M. (1997) Antimicrobial susceptibility of *Bordetella bronchiseptica* isolates from cats and a comparison of the agar dilution and E-test methods *Vet. Microbiol.* , **54**(1):63-72.

SPEAKMAN, A.J.; DAWSON, S.; CORKILL, J.E.; BINNS, S.H.; HART, C.A.; GASKELL, R.M. (2000) Antimicrobial susceptibility of canine *Bordetella bronchiseptica* isolates. *Vet. Microbiol.* , **71**:193-200.

SPRENG, M.; DELEFORGE, J.; THOMAS, V.; BOISRAMÉ, B.; 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** :284-289.

SPSS Inc. (1996) SPSS for Windows Student Version. Release 7.5.

STAHLMANN, R. (1990) Safety profile of the quinolones. *J. Antimicrob.. Chemother.*, **26**(Suppl.D):31-44.

STAHLMANN, R.; FÖRTSER, C.; SHAKIBAEI, M.; VORMANN, J.; GÜNTHER, T.; MERKER, H.J. (1995) Magnesium deficiency induces joint cartilage lesions in juvenile rats which are identical to quinolone-induced arthropathy. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39**(9):2013-2018.

STAHLMANN, R. & LODE, H. (1999) Toxicity of quinolones. *Drugs*, **58**(Suppl.2):37-42.

STEGEMAN, M.; HEUKAMP, U.; SCHEER, M; KREBBER, R. (1996) Kinetics of antibacterial activity after administration of enrofloxacin in dog serum and skin; in vitro susceptibility of field isolates. *Suppl. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, **18**(2):30-34.

STEIN, G.E. (1987) Review of the bioavailability and pharmacokinetics of oral norfloxacin. *Am. J. Med.*, **82**(suppl. 6B):18-21.

STOFFREGEN, D.A.; CHAKO, A.J.; BACKMAN, S.; BABISH, J.G. (1993) Successful therapy of furunculosis in Atlantic salmon *Salmo salar* L. using the fluoroquinolone antimicrobial agent enrofloxacin . *J. Fish Dis.*, **16**(3):219-228.

STOFFREGEN, D.A.; WOOSTER, G.A.; BUSTOS, P.S.; BOWSER, P.R.; BABISH, J.G. (1997) Multiple route and dose pharmacokinetics of enrofloxacin in juvenile Atlantic salmon *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(2):111-123.

STUDDERT, V.P. & HUGHES, K.L. (1992) Treatment of opportunistic mycobacterial infections with enrofloxacin in cats [clinical reports]. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, **201**(9):1388-1390.

- SUCKOW, M.A.; MARTIN, B.J.; BOWERSOCK, T.L.; DOUGLAS, F.A. (1996) Derivation of *Pasteurella multocida*-free rabbit litters by enrofloxacin treatment. *Vet. Microbiol.*, **51**(1-2):161-168.
- SUGAR, A.M.; LIU, X.P. & CHEN, R.J. (1997) Effectiveness of quinolone antibiotics in modulating the effects of antifungal drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **41**(11):2518-2521.
- SUMANO LÓPEZ, H. (1993) Quinolonas y fluoroquinolonas en medicina veterinaria. *Veterinaria México*, **24**(2):83-92.
- SUMANO LÓPEZ, H.; OCAMPO, C.L.; BRUMBAUGH, G.W.; LIZARRAGA, R.E. (1998) Effectiveness of two fluorquinolones for the treatment of chronic respiratory disease out break in broilers. *Br. Poult. Sci.* **39**(1):42-46.
- SUNDLOF, S.F. (1994) Human health risks associated with drug residues in animal-derived foods. *J. Agromedicine*, **1**(2):5-20.
- SZOTÁKOVÁ, B.; BALIHAROVÁ, V.; LAMKA, J.; NOZINOVÁ, E.; WSÓL, V.; VELÍK, J.; MACHALA, M.; NECA, J.; SOUCEK, P.; SUSOVÁ, S.; SKÁLOVÁ, L. 2004. Comparison of in vitro activities of biotransformation enzymes in pig, cattle, goat and sheep. *Res. Vet. Sci.***76**: 43-51.
- TABA, H. & KUSANO, N. (1998) Sparfloxacin resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*: involvement of multiple mutations in *gyrA* and *parC* genes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**(9):2193-2196.
- TAKADA, S.; KATO, M. & TAKAYAMA, S. (1994) Comparison of lesions induced by intra-articular injections of quinolones and compounds damaging cartilage components in rat femoral condyles. *J. Toxicol. Environm. Health*, **42**(1):73-88.
- TAKAYAMA, S.; HIROHASHI, M.; KATO, M.; SHIMADA, H. (1995) Toxicity of quinolone antimicrobial agents. *J. of Toxicol. Environm. Health*, **45**:1-45.
- TAYLOR, D.J. (1999) Antimicrobial use in animals and its consequences for humans health. *Clin. Microbiol. Infect.*, **5**(3):119-124.
- TENG, R.L., GIRARD, D., GOOTS, T.D., FOULDS, G., LISTON, T.E. (1996) Pharmacokinetics of trovafloxacin (CP-99,219), a new quinolone, in rats, dogs, and monkeys. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **40**(3):561-566.
- TESKE, R.H. (1993) Microbiological significance of drug residues in food: welcome and introduction. *Vet. Human Toxicol.* **35**(Suppl.1):1-2.



- TORIUMI, H., ICHIKAWA, H., KUWAHARA, Y., TAKEISHI, M. (1997) Therapeutic efficacy of the enrofloxacin on porcine exudative epidermitis. *Japanese J. Swine Sci.*, **34**(3):106-114.
- TOUTAIN, P.L.; DEL CASTILLO, J.R.E.; BOUSQUET-MÉLOU. (2002) The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Res. Vet. Sci.*, **73**:105-114.
- TRAN, J.H. & JACOBY, J.A. (2002) Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proceeding of the National Academy of Science of the United States*, **99**(8):5638-5642.
- TROLLDENIER, H. (1980) Antibióticos en medicina veterinaria. Acribia, Zaragoza (España), 275 p.
- TURBAHN, A.; DE JACKEL, S.; GREUEL, E.; DE JONG, A. ; FROYMAN, R.; KALETA, E.F. (1997) Dose response study of enrofloxacin against *Riemerella anapestifer* septicaemia in Muscovy and Pekin ducklings. *Avian Pathol.*, **26**(4):791-802.
- TYCZKOWSKA, K.L.; HEDEEN, K.M. AUCOIN, D.P.; ARONSON, A.L. (1989) High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of enrofloxacin and its primary metabolite ciprofloxacin in canine serum and prostatic tissue. *J. Chromatograp. Biomed. Applications*, **493**:337-346.
- TYCZKOWSKA, K.L.; VOYKSNER, R.D.; ANDERSON, K.L.; PAPICH, M.G. (1994) Simultaneous determination of enrofloxacin and its primary metabolite ciprofloxacin in bovine milk and plasma by ion-pairing liquid chromatography. *J. Chromatographic B: biomedical applications*, **19**(2):341-348.
- USANSKY, J.I.; DESAI, A.; TANG-LIU, D. 1999. PK functions for Microsoft Excel. Department of Pharmacokinetics and Drug Metabolism, Allergan, Irvine, USA.
- van BOVEN, M.; VELDMAN, K.T.; de JONG M.C.M.; MEVIOUS, D.J. (2003) Rapid selection of quinolone resistance in *Campylobacter jejuni* but not in *Escherichia coli* in individually housed broilers. *J. Antimicrob. Chemother.*, **52**(4):719-723.
- van den BOGAARD, A.E. & STOBBERINGH, E.E. (1999) Antibiotic usage in animals. Impact on bacterial resistance and public health. *Drugs*, **58**(4):589-607.
- van den HOVEN, R. (1997) A multi-centre observational study on the efficacy of Dicural<sup>®</sup> Palatabs<sup>®</sup> (difloxacin) for the treatment of canine cystitis. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):185-186.
- van DRESSER, W.R. & WILCKE, J.R. (1989) Drug Residues in Food animals. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, **194**(12):1700-1710.

- van DUIJKEREN, E. ; VAN KLINGEREN, B.; VULTO, A.G.; SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M.M.; BREUKINK, H.J.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. (1995) In vitro susceptibility to antimicrobial drugs of 62 *Salmonella* strains isolated from horses in The Netherlands *Vet. Microbiol.*, **45**(1):19-26.
- van DUIJKEREN, E. ; WANNET, W.J.B.; HECK, M.E.O.C.; VAN PELT, W.; SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M.M.; SMITH, J.A.H.; HOUWERS, D.J. (2002) Sero types, phage types and antibiotic susceptibilities of *Salmonella* strains isolated from horses in The Netherlands from 1993 to 2000. *Vet. Microbiol.* , **86**:203-212.
- VANCUTSEM, P.M., BABISH, J.G & SCHWARK, W.S. (1990). The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *Cornell Vet.*, **80**:173-186.
- VANCUTSEM, P.M. & BABISH, J.G. (1996) *In vitro* and *in vivo* study of the effects of enrofloxacin on hepatic cytochrome P-450. Potential for drug interactions. *Vet. Human Toxicol.*, **38**(4):254-259.
- VERMA, H.K.; PANGAWKAR, G.R.; CHAUDHARY, R.K.; SRIVASTAVA. 1999. Pharmacokinetics and dosage regimen of enrofloxacin in buffalo bulls after intramuscular administration. *Vet. Res. Commun.*, **23**:501-505.
- VARON, E.; JANOIR, C.; KITZIS, M.D.; GUTMANN, L. (1999) ParC and GyrA may be interchangeable initial targets of some fluoroquinolones in *Streptococcus pneumoniae* *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**(2):302-306.
- VILLA, R., PRANDINI, E., CALONI, F., CARLI, S. (1997) Serum protein binding of some sulphonamides, quinolones and fluoroquinolones in farm and domestic animals. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl.1):34-35.
- VULFSON, L.; PEDERSEN, K.; CHRIÉL, M., FRYDENDAHL, K.; HOLMEN ANDERSEN, T.; MADSEN, M.; DIETZ, H.H. (2001) Serogroups and antimicrobial susceptibility among *Escherichia coli* isolated from farmed mink (*Mustela vison Schreiber*) in Denmark. *Vet. Microbiol.*, **79**:143-153.
- WALKER, R.D., STEIN, G.E., BUDSBERG, S.C., ROSSER, E.J., MACDONALD, K.H. (1989) Serum and tissue fluid norfloxacin concentrations after oral administration of the drug to healthy dogs. *Am. J. Vet. Res.*, **50**(1):154-157.
- WALKER, R.D., STEIN, G.E., HAUPTMAN, J.G., MACDONALD, K.H. (1992) Pharmacokinetics evaluation of enrofloxacin administered orally to healthy dogs. *Am. J. Vet. Res.*, **53**(12):2315-2319.

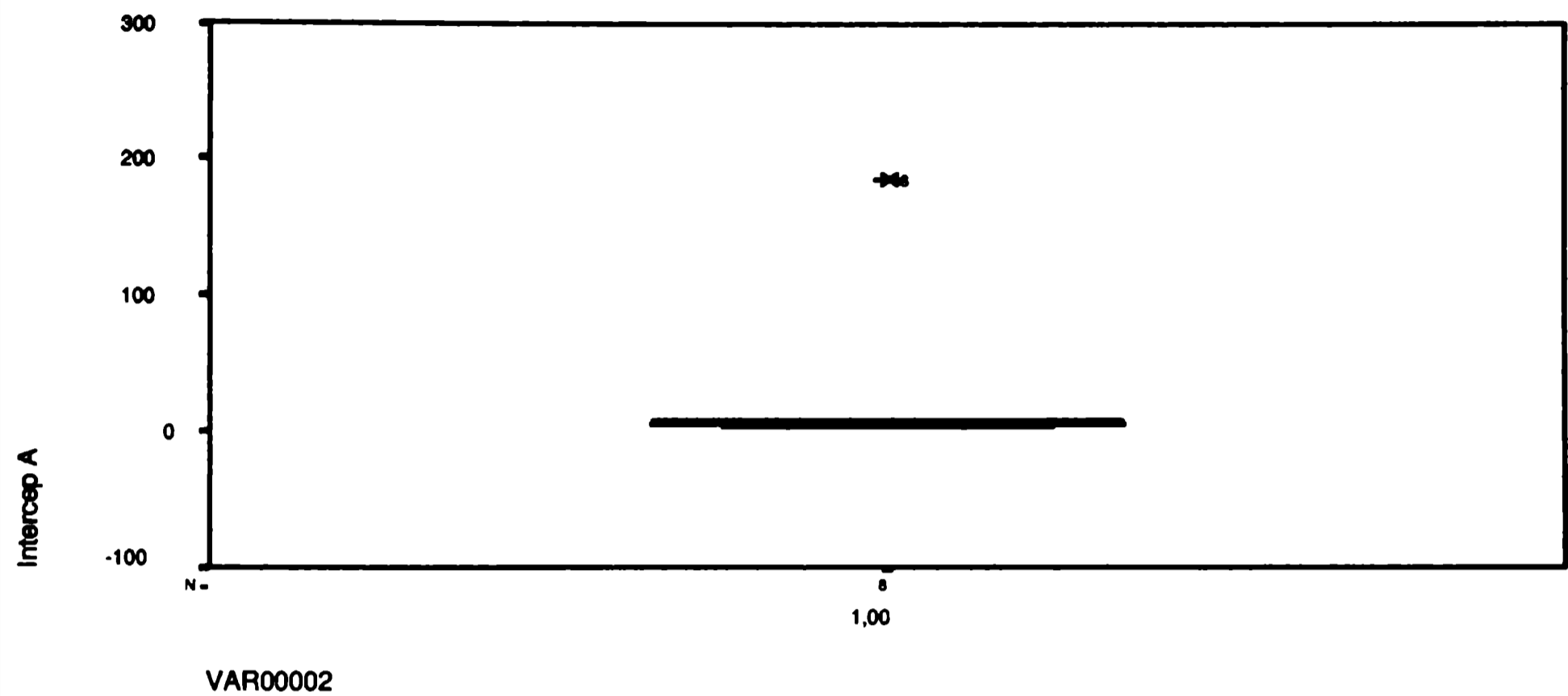
- WALLGREN, P.; SEGALL, T.; MOERNER, A.P.; GUNNARSON, A. (1999) Experimental infections with *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs- I Comparison of five different parenteral antibiotic treatments. *J. Vet.Med.B*, **46**(4):249-260.
- WALSER, K.; GANDORFER,B.; STEINBERGER, A.; TREITINGER, E.; WINTER, T. (1993) Studies of the antibacterial activity and pharmacokinetics of enrofloxacin (Baytril®) in lactating cows. *Tierarztliche Umschau*, **48**(7):414.
- WALTNER-TOEWS, D. & McEWEN, S.A. (1994) Residues of antibacterial and antiparasitic drugs in foods of animal origin: a risk assessment. *Prev. Vet. Med.*, **20**:219-234.
- WATTS, J.L., SALMON, S.A., YANCEY, R.J., NICKERSON, S.C., WEAVER, L.J., HOLMBERG, C., PANKEY, J.W. & FOX, L.K. (1995) Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from the mammary glands of dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, **78**(7):1637-1648.
- WATTS, J.L., SALMON, S.A., SANCHEZ, M.S.; YANCEY Jr, R.J. (1997) In Vitro activity of premafloxacin, a new extended-spectrum fluoroquinolone, against pathogens of veterinary importance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **41**(5):1190-1192.
- WEBBER, M.A. & PIDDOCKL .J.V. (2003) The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *J. Antimicrob. Chemother.*, **51**:9-11.
- WEGENER, H.C.; WATTS, J.L.; SALMON, S.A.; YANCEY Jr, R.J. (1994). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus hyicus* isolated from exudative epidermitis in pigs. *J. Clin. Microbiol.*, **32**(3):793-795.
- WEIGEL, L.W.; STEWARD, C.D. & TENOVER, F.C. (1998) *GyrA* mutations associated with fluoroquinolone resistance in eight species of *Esterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**(10):2661-2667.
- WEISS, M.E. & N. F. ADKINSON. (1991) Alergia a los betalactámicos. Capítulo 21, p. 275-280. In: Mandell, G.L.; Douglas, R.G. y Bennet, J.E. (Ed.). Enfermedades Infecciosas: Principios y Prácticas, 3era. Edición Buenos Aires, Panamericana. Tomo I, 1180 p.
- WETZSTEIN, H.G. & de JONG, A. (1996) In vitro bactericidal activity and postantibiotic effect of fluoroquinolones used in veterinary medicine. *Suppl. Compend. Contin. Educ.Pract.Vet.*, **18**(2):22-29.
- WHITE, D.G.; PIDDOCK, L.J.V.; MAURER,J.J.; ZHAO, S.; RICCI, V.; THAYER, S.G. (2000) Characterization of fluoroquinolone resistance among veterinary isolates of avian *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **44**(10):2897-2899.

- WHO. 1998. Emerging and other communicable diseases, surveillance and control. Report of a WHO Meeting: Use of quinolones in food animals and potential impact on human health, Geneva, Switzerland. 2-5 June 1988. 13 p, <http://www.who.int/emc>.
- WIEBE, V. & HAMILTON, P. (2002) Fluoroquinolone-induced retinal degeneration in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **221**(11):1568-1571.
- WILLIAMS, P.J.; COURTENAY, S.C. & VASDY, C. (1997) Use of enrofloxacin to control atypical *Aeromonas salmonicida* in Atlantic tomcod. *J. Aquatic Anim. Health*, **9**(3):216-222.
- WILSON, D. (2002) Feline visual changes associated with enrofloxacin. *Can. Vet. J.* **43**:163.
- WISE, R. & DONOVAN, I.A. (1987) Tissue penetration and metabolism of ciprofloxacin. *Am. J. Med.*, **82** (suppl. 4A):103-107.
- WISE, R. (1991) Comparative penetration of selected fluoroquinolones into respiratory tract fluids and tissues. *Am. J. Med.*, **91**(suppl. 6A):67s-70s.
- WISE, R., LOCKLEY, R.M., WEBBERLY, M., DENT, J. (1984) Pharmacokinetics of intravenously administered ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **26**(2):208-210.
- WIUFF, C.; LYKKESFELDT, J.; AARESTRUP, F.M.; SVENDSEN, O. (2002) Distribution of enrofloxacin in intestinal tissue and contents of healthy pigs after oral and intramuscular administrations. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, **25**:335-342.
- WIUFF, C.; LYKKESFELDT, J.; SVENDSEN, O.; AARESTRUP, F.M. (2003) The effects of oral and intramuscular administration and dose escalation of enrofloxacin on the selection of quinolone resistance among *Salmonella* and coliforms in pigs. *Res. Vet. Sci.*, **75**(3):185-193.
- WOLFSON J.S. & HOOPER, D.C. (1985) The fluoroquinolones: structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity in vitro *Antimicrob. Agents Chemother.*, **28**(4):581-586.
- WU, C.C.; SHRYOCK, T.R.; LIN, T.L.; FADERAN, M.; VEENHUIZEN, M.F. (2000) Antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma hyorhinis*. *Vet. Microbiol.*, **76**(2000):25-30.
- XIAO-SU, P. & FISHER, M. (1998) DNA Gyrase and Topoisomerase IV are dual targets of clinafloxacin action in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**(11):2810-2816.
- YAMAOKA, K.; NAKAGAWA, T. & UNO, T. (1978a) Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* **6**:165-175.

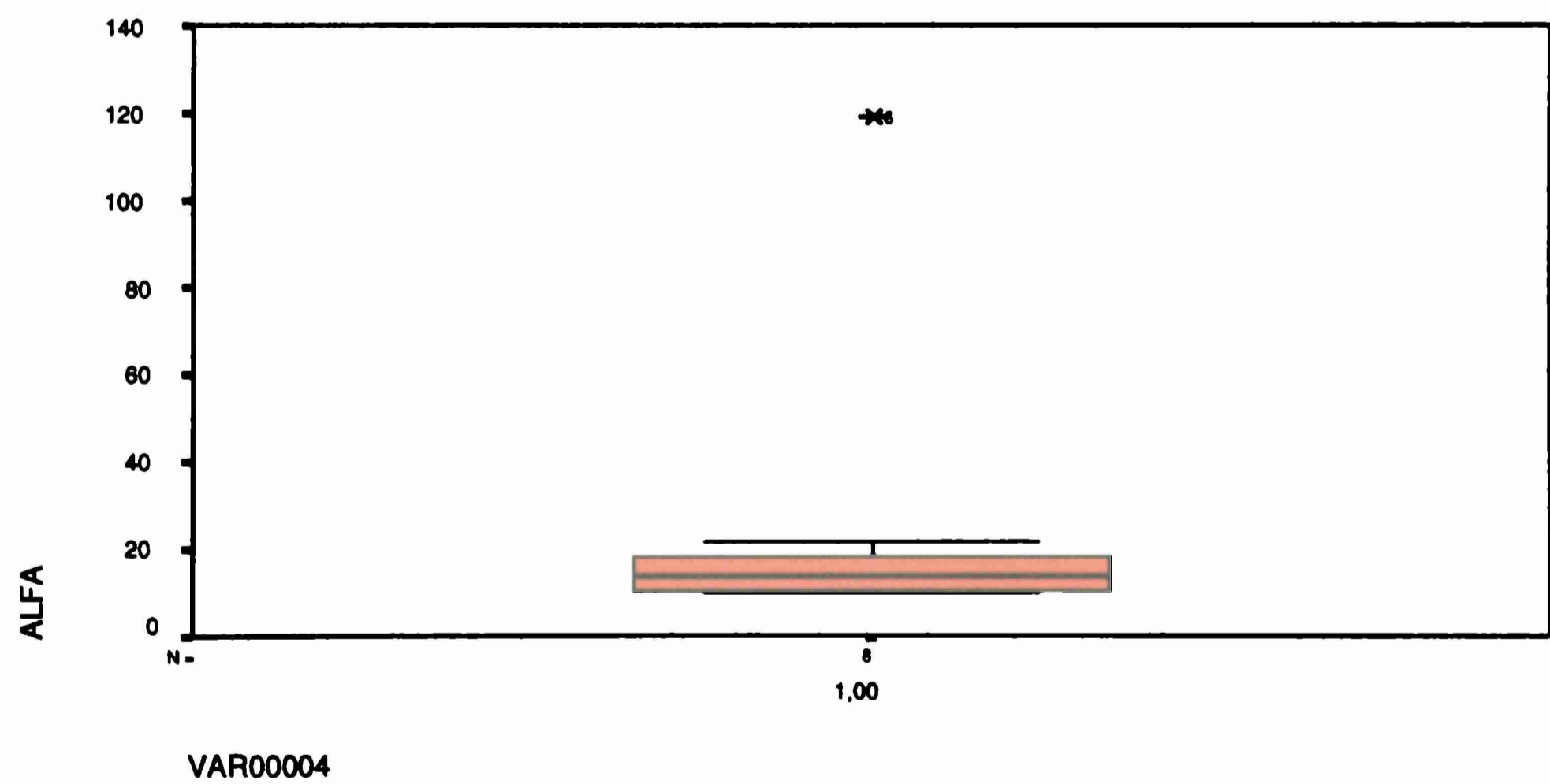
- YAMAOKA, K.; NAKAGAWA, T. & UNO, T. (1978b) Statistical moments in pharmacokinetics. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* **6**:547-558.
- YAMAMOTO, K.; KIJIMA, M.; YOSHIMURA, H.; TAKAHASHI, T. (2001) Antimicrobial susceptibilities of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from pigs with swine erysipelas in Japan, 1988-1998. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health*, **48**(2):115-126.
- YOSHIDA, K.; YABE, K.; NISHIDA, S.; YAMAMOTO, N.; OHSHIMA, C.; SEKIGUCHI, M.; YAMADA, K.; FURUHAMA, K. (1998) Pharmacokinetic disposition and arthropathic potential of oral ofloxacin in dogs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **21**:128-132.
- YOSHIMURA, H.; ISHIMARU, M.; ENDOH, Y.S.; KOJIMA, A. (2001) Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from cattle and pigs. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health*, **48**(7):555-560.
- YOSHIMURA, H.; TAKAGI, M.; ISHIMURA, M.; ENDOH, Y.S. (2002) Comparative *in vitro* activity of 16 antimicrobial agents against *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet. Res. Comm.*, **26**:11-19.
- YOUNG, L.A.; SCHUMACHER, J.; PAPICH, M.G.; JACOBSON, E.R. (1997) Disposition of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravascular injection in juvenile Burmese pythons (*Python molurus bivittatus*). *J. Zoo Wildlife Med.*, **28**(1):71-79.
- ZENG, Z. & FUNG, K. (1997) Effects of experimentally induced *Escherichia coli* infection on the pharmacokinetics of enrofloxacin in pigs. *J. Vet. Pharm. Therap.*, **20**(Suppl. 1):39-40.
- ZIV, G. (1994) Pharmacotherapeutics of antibacterial fluoroquinolones in small and large animal practice. *Proceedings of the Sixth Congress of the European Association for Vet. Pharmacology and Toxicology*. Session 9: Anti-microbials and Chemotherapeutics, Edinburgh, Scotland. p. 194.
- ZURICH, L & SAN MARTÍN, B. (1994) Residuos de antimicrobianos en leche: monografía. *Monografías Med. Vet.*, **16**(1-2):19-27.



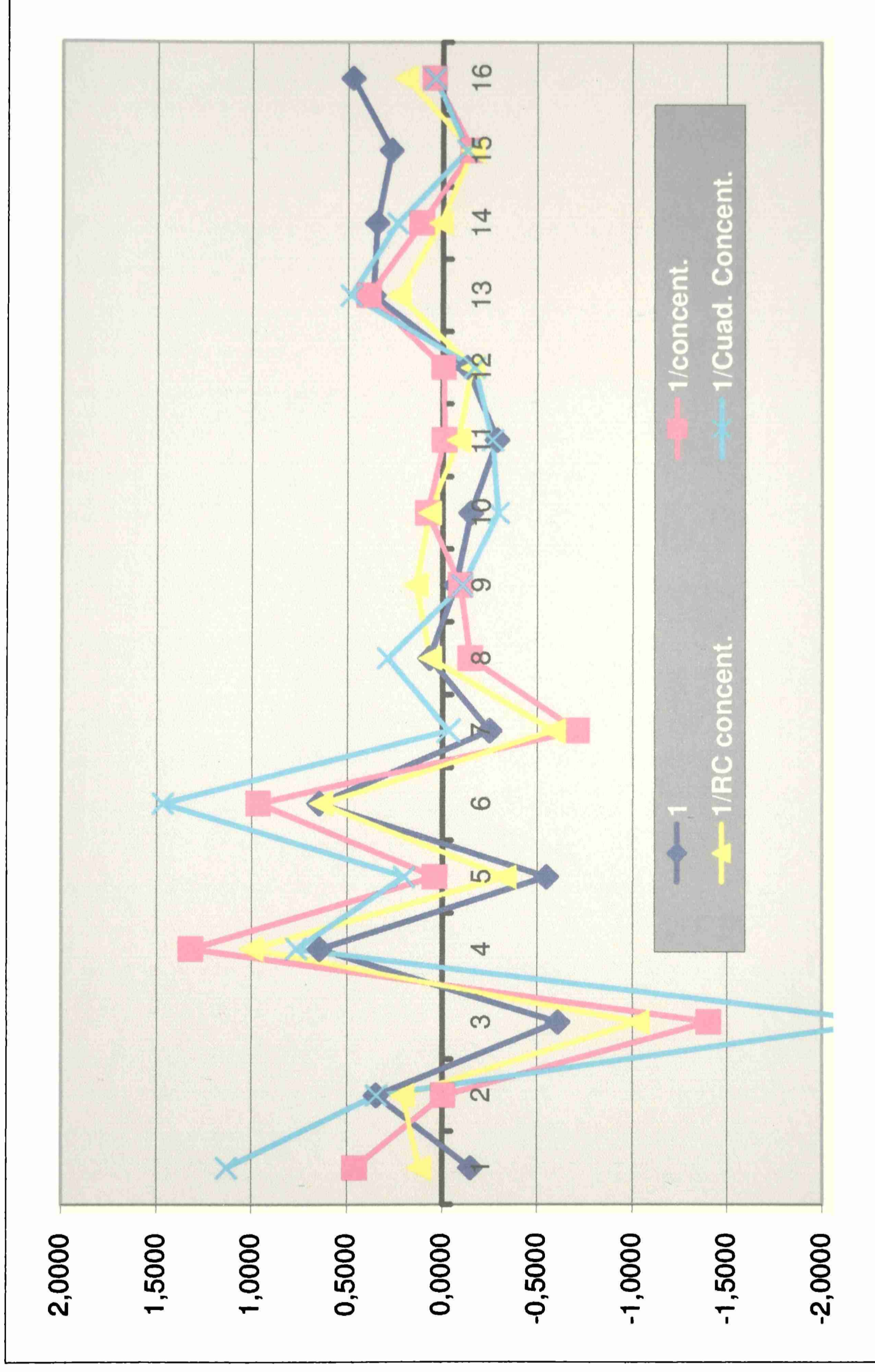
**Figura I.** Gráfico de caja (boxplot) que muestra un valor marginal para la intercepción A de la curva estimada por CSTRIP para uno de los animales



**Figura II.** Gráfico de caja (boxplot) que muestra un valor marginal para la constante híbrida alfa ( $\alpha$ ) de la curva estimada por CSTRIP para uno de los animales

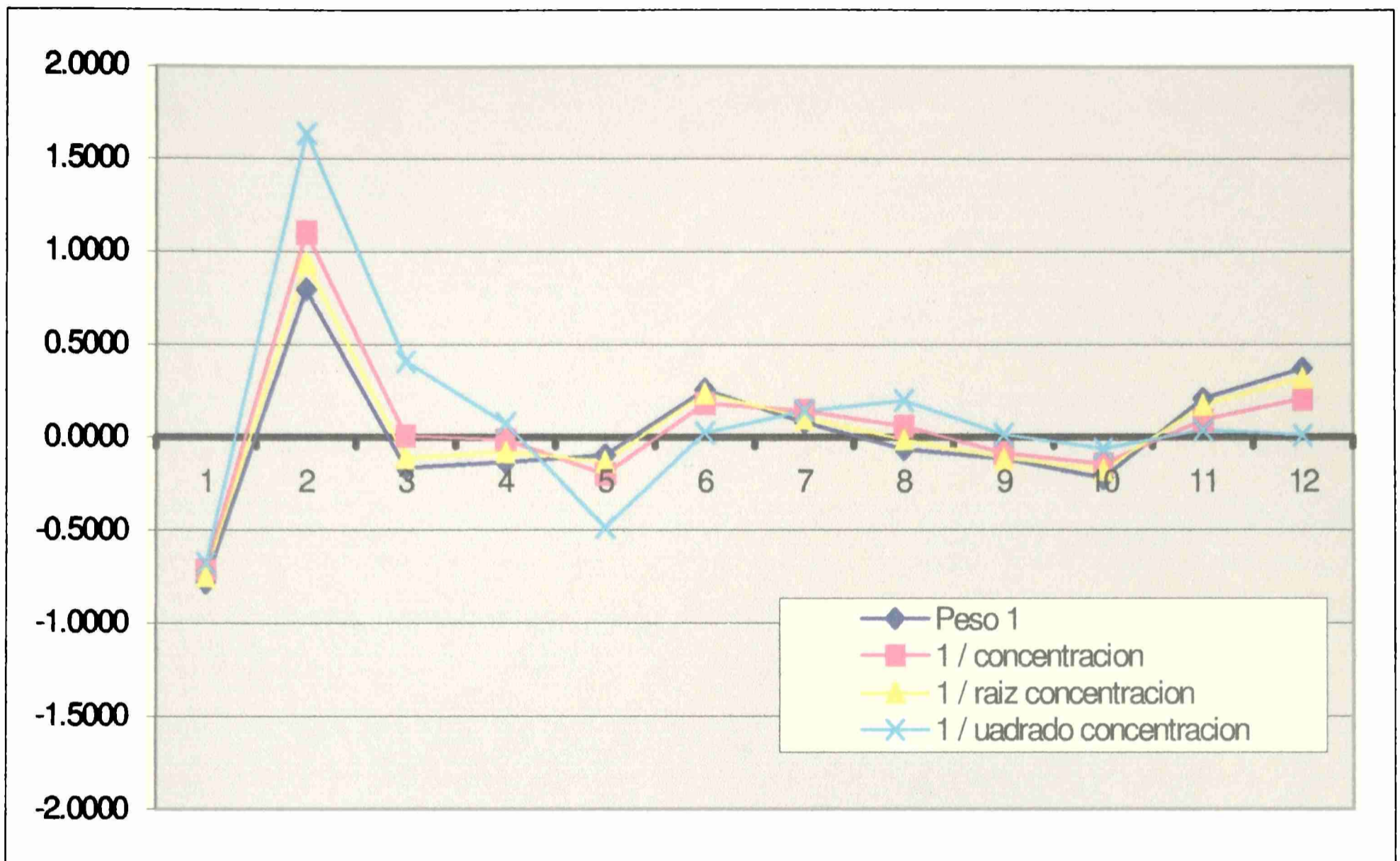


**Figura III.** Distribución de los residuales de los datos obtenidos con respecto a los calculados por el modelo tricompartimental, para la enrofloxacina luego de la administración intravenosa. Se muestran las cuatro ponderaciones utilizadas:  $X$ ,  $1/X$ ,  $1/\sqrt{X}$ , y  $1/X^2$ , donde  $X$  son las concentraciones plasmáticas a los distintos tiempos luego de la administración de la droga.

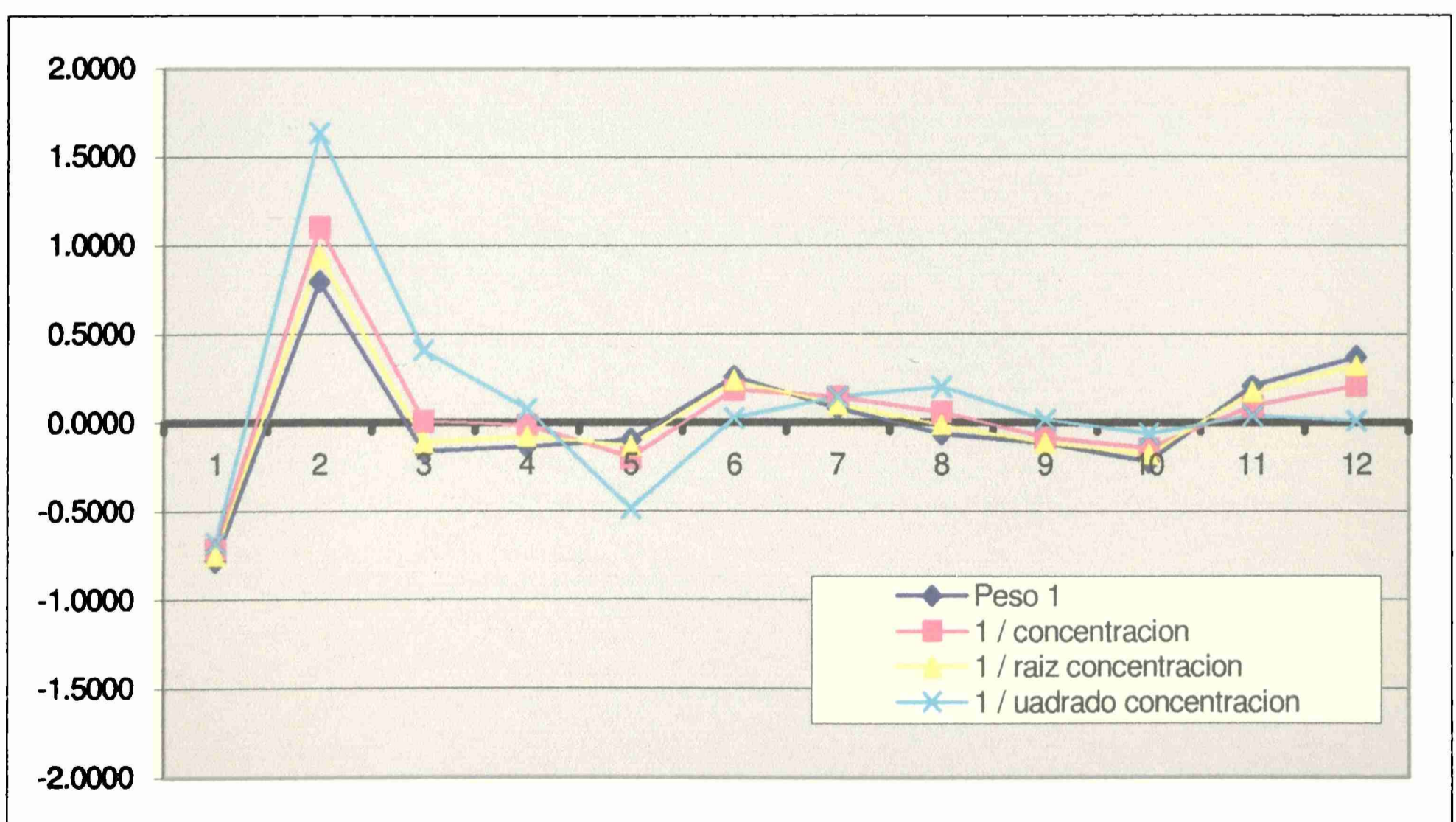




**Figura IV:** dispersión y distribución aleatoria alrededor de la abcisa de los residuales (estandarizados) obtenidos entre las concentraciones plasmáticas experimentales y las concentraciones teóricas determinadas por ADAPT II para la enrofloxacin administrada en forma intramuscular



**Figura V:** dispersión y distribución aleatoria alrededor de la abcisa de los residuales (estandarizados) obtenidos entre las concentraciones plasmáticas experimentales y las concentraciones teóricas determinadas por ADAPT II para la enrofloxacin administrada en forma subcutánea.



## Tabla I. Fórmulas empleadas para los cálculos farmacocinéticos

### I. Funciones PK de Usansky y colaboradores utilizadas para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales

I.1) Área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t [AUC 0\_t]

$$AUC\ 0\_t = n (C_i + C_{i+1}) / 2$$

Donde,  $t$  = valores de tiempos  
 $C$  = Valores de concentraciones (ej:concentración  $C_i$  al tiempo  $t_i$ )  
 $n$  = Total de puntos concentración-tiempo  
 $i$  = índice de referencia para el  $i^o$  valor conentración-tiempo

I.2) Área bajo la curva en el primer momento del tiempo 0 al tiempo t [AUMC 0\_t]

$$AUMC\ 0\_t = n (t_{i+1} - t_i) / 2$$

Donde,  $AUC\ 0\_t$  = Área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t  
 $t$  = valores de tiempos  
 $C$  = Valores de concentraciones (ej:concentración  $C_i$  al tiempo  $t_i$ )  
 $n$  = Total de puntos concentración-tiempo  
 $i$  = índice de referencia para el  $i^o$  valor conentración-tiempo

I.3) Constante de la tasa de eliminación:

$$\ln C_t = \ln b - t * \text{constante de la tasa de eliminación}$$

Donde,  $C_t$  = Concentración al tiempo t  
 $b$  = constante  
 $\ln$  = logaritmo natural

I.4) Vida Media

$$t_{1/2} = \ln(2) / \text{Constante de la tasa de eliminación}$$

Donde,  $\ln$  = logaritmo natural

I.5) Área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo infinito [AUC 0\_inf]

$$AUC\ 0\_inf = AUC\ 0\_t + C_{last} / \text{Constante de la tasa de eliminación}$$

Donde,  $AUC\ 0\_t$  = Área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t  
 $C_{last}$  = última concentración medible al tiempo  $t_{last}$

**Tabla I (cont.)**

I.6) Área bajo la curva en el primer momento del tiempo 0 al tiempo infinito [AUM C 0\_inf]

$$\text{AUMC } 0\_inf = \text{AUMC } 0\_t + (t_{last} * C_{last} / \text{Constante de la tasa de eliminación} + (C_{last} / \text{Constante de la tasa de eliminación}^2)$$

Donde, AUMC 0\_t = Área bajo la curva en el primer momento del tiempo 0 al tiempo t  
 t<sub>last</sub> = tiempo a la última concentración medible  
 C<sub>last</sub> = última concentración medible al tiempo t<sub>last</sub>

I.7) Aclaramiento total [Cl]

$$Cl = \frac{\text{dosis total}}{\text{AUC } 0\_inf}$$

Donde, AUMC 0\_inf = Área bajo la curva en el primer momento del tiempo 0 al tiempo infinito

I.8) Tiempo Máximo de Residencia [TMR]

$$\text{TMR} = \frac{\text{AUMC } 0\_inf}{\text{AUC } 0\_inf}$$

Donde, AUMC 0\_t = Área bajo la curva en el primer momento del tiempo 0 al tiempo t  
 AUMC 0\_inf = Área bajo la curva en el primer momento del tiempo 0 al tiempo infinito

I.9) Volumen de distribución en estado de equilibrio estacionario [Vd<sub>(ss)</sub>]

$$Vd_{(ss)} = \frac{\text{Dosis} * \text{AUMC } 0\_inf}{\text{AUC } 0\_inf^2}$$

Donde, AUC 0\_inf = Área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo infinito  
 AUMC 0\_inf = Área bajo la curva en el primer momento del tiempo 0 al tiempo infinito

**II. Fórmulas clásicas de Gibaldi (1982), Baggot (1986) y Domenech-Berrozpe-Plá Delfina (1997) utilizadas para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos compartimentales y no compartimentales**

II.1) Vida media de distribución rápida

$$T_{1/2} \pi = \frac{0.693}{\pi}$$

Donde,  $\pi$  es la constante híbrida de distribución rápida

II.2) Vida media de distribución lenta

$$T_{1/2} \alpha = \frac{0.693}{\alpha}$$

Donde,  $\alpha$  es la constante híbrida de distribución lenta

II.3) Vida media de eliminación

$$T_{1/2} \beta = \frac{0.693}{\beta}$$

Donde,  $\beta$  es la constante híbrida de distribución lenta

II.4) microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central [ $K_{21}$ ] para un modelo tricompartmental.

$$K_{21} = \frac{1}{2} (-b + \sqrt{b^2 - 4c}) = \alpha + \frac{A \cdot (\pi - \alpha) \cdot (\alpha - \beta)}{(P + A + B) \cdot (\alpha - K_{31})}$$

$$\text{Donde, } b = - \frac{\pi B + \pi A + \beta P + \beta A + \alpha P + \alpha B}{P + A + B}$$

$$c = \frac{\alpha \pi B + \pi \beta A + \alpha \beta P}{P + A + B}$$

donde,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación; y  $A$ ,  $B$  y  $P$  son las intersecciones al origen de las fases de la curva de disposición plasmática.

Tabla I. (cont.)

II.5) microconstante de transferencia desde el compartimento central al compartimento periférico superficial [ $K_{12}$ ] para un modelo tricompartmental.

$$K_{12} = \frac{(\alpha \cdot \beta + \alpha \cdot \pi + \beta \cdot \pi) - K_{21} \cdot (\alpha + \beta + \pi) - K_{10} \cdot K_{13} + K_{21}^2}{K_{31} - K_{21}}$$

donde,  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central;  $K_{13}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento central al compartimento periférico profundo;  $K_{31}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico profundo al compartimento central;  $K_{10}$  es la microconstante de eliminación desde el compartimento central; y  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación.

II.6) microconstante de transferencia desde el compartimento central al compartimento periférico profundo [ $K_{13}$ ]

$$K_{13} = \alpha + \beta + \pi - (K_{10} + K_{12} + K_{21} + K_{31})$$

donde,  $K_{12}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento central al compartimento periférico superficial;  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central;  $K_{31}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico profundo al compartimento central;  $K_{10}$  es la microconstante de eliminación desde el compartimento central;  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación.

II.7) microconstante de transferencia desde el compartimento periférico profundo al compartimento central [ $K_{31}$ ]

$$K_{31} = \beta + \frac{B \cdot (\pi - \beta) \cdot (\alpha - \beta)}{(P+A+B) \cdot (K_{21} - \beta)}$$

donde,  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central;  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación; y  $A$ ,  $B$  y  $P$  son las intersecciones al origen de las fases de la curva de disposición plasmática.

II.8) microconstante de eliminación desde el compartimento central [ $K_{10}$ ] para un modelo tricompartmental.

$$K_{10} = \frac{\alpha \cdot \beta \cdot \pi}{K_{21} \cdot K_{31}}$$

donde,  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central;  $K_{31}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico profundo al compartimento central;  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación.

Tabla I. (cont.)

II.9) Área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo infinito  $[ABC_{0\_inf}]$  para tres compartimentos:

$$ABC_{0\_inf} = \frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta} + \frac{P}{\pi}$$

II.10) Volumen del compartimento central  $[V_c]$ :

$$V_c = \frac{\text{Dosis / Kg}}{P + A + B}$$

Donde, A, B y P son las intersecciones al origen de las fases de la curva de disposición plasmática.

II.11) Volumen de distribución en estado de equilibrio estacionario  $[Vd_{(ss)}]$  para tres compartimentos:

$$Vd_{(ss)} = V_c \cdot \frac{(K_{21} \cdot K_{31}) + (K_{12} \cdot K_{31}) + (K_{21} \cdot K_{13})}{K_{21} \cdot K_{31}} =$$

$$= V_c + (K_{12} / K_{21} \cdot V_c) + (K_{13} / K_{31} \cdot V_c)$$

donde,  $K_{12}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento central al compartimento periférico superficial;  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central;  $K_{13}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento central al compartimento periférico profundo;  $K_{31}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico profundo al compartimento central;  $K_{10}$  es la microconstante de eliminación desde el compartimento central; y  $V_c$  es el volumen del compartimento central

II.12) microconstante de transferencia desde el compartimento central al compartimento periférico  $[K_{12}]$  para un modelo bicompartimental.

$$K_{12} = \frac{A \cdot B \cdot (\alpha - \beta)^2}{(A + B) \cdot (A \cdot \beta + B \cdot \alpha)} = \alpha + \beta - K_{21} - K_{10}$$

donde,  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación; A y B son las intersecciones al origen de las fases de la curva de disposición plasmática;  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central; y  $K_{10}$  es la microconstante de eliminación desde el compartimento central.

Tabla I. (cont.)

II.13) microconstante de transferencia desde el compartimento periférico al compartimento central [ $K_{21}$ ] para un modelo bicompartimental.

$$K_{21} = \frac{(A \cdot \beta) + (B \cdot \alpha)}{A + B} = \alpha \cdot \frac{V_c}{V_{d(\text{área})}}$$

donde,  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central;  $A$  y  $B$  son las intersecciones al origen de las fases de la curva de disposición plasmática;  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación;  $V_{d(\text{área})}$  es el volumen de distribución en función del área; y  $V_c$  es el volumen del compartimento central.

II.14) Microconstante de eliminación desde el compartimento central [ $K_{10}$ ] para un modelo bicompartimental

$$K_{10} = \frac{\alpha \cdot \beta}{K_{21}} = \frac{(A + B) \cdot \alpha \cdot \beta}{(A \cdot \beta) + (B \cdot \alpha)} = \beta \cdot \frac{V_{d(\text{área})}}{V_c}$$

donde,  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central;  $A$  y  $B$  son las intersecciones al origen de las fases de la curva de disposición plasmática;  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación;  $V_{d(\text{área})}$  es el volumen de distribución en función del área; y  $V_c$  es el volumen del compartimento central.

II.15) Volumen del compartimento central para un modelo bicompartimental:

$$V_c = \frac{\text{Dosis / Kg}}{A + B}$$

Donde,  $A$  y  $B$  son las intersecciones al origen de las fases de la curva de disposición plasmática.

II.16) Volumen del compartimento periférico:

$$V_p = V_c \cdot \frac{K_{12}}{K_{21}}$$

donde,  $K_{12}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento central al compartimento periférico superficial;  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central; y  $V_c$  es el volumen del compartimento central.

Tabla I. (cont.)

II.17) Volumen de distribución en estado de equilibrio estacionario [ $Vd_{(ss)}$ ] para un modelo bicompartimental:

$$Vd_{(ss)} = Vc \cdot \frac{K_{12} + K_{21}}{K_{21}} = Vc \cdot \left[ 1 + \left( \frac{K_{12}}{K_{21}} \right) \right]$$

donde,  $K_{12}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento central al compartimento periférico superficial;  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central; y  $Vc$  es el volumen del compartimento central

II.18) Volumen de distribución en función del área:

$$Vd_{(área)} = \frac{\text{Dosis}}{ABC_{(0-inf)} \cdot \beta} = \frac{\text{Dosis}}{(A / \alpha + B / \beta) \cdot \beta}$$

donde,  $A$  y  $B$  son las intersecciones al origen de las fases de la curva de disposición plasmática;  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación; y  $ABC_{(0-inf)}$  es el área bajo la curva desde el tiempo cero al tiempo infinito.

II.19) Aclaramiento corporal total [Cl]:

$$Cl = Vd_{(área)} \cdot \beta = K_{10} \cdot Vc$$

donde,  $Vd_{(área)}$  es el volumen de distribución en función del área;  $\beta$  es la constante híbrida de eliminación;  $K_{10}$  es la microconstante de eliminación desde el compartimento central; y  $Vc$  es el volumen del compartimento central.

II.20) Intercepción al origen de la fase de distribución [A] para un modelo bicompartimental y administración intravasal:

$$A = \frac{(D / Vc) \cdot (K_{21} - \alpha)}{\beta - \alpha} = \frac{D \cdot (\alpha - K_{21})}{Vc \cdot (\alpha - \beta)}$$

Donde,  $D$  es la dosis;  $Vc$  es el volumen del compartimento central;  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación respectivamente; y  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central.



Tabla I. (cont.)

II.21) Intercepción al origen de la fase de eliminación [B] para un modelo bicompartimental y administración intravasal:

$$B = \frac{(D / V_c) \cdot (K_{21} - \beta)}{\alpha - \beta} = \frac{D \cdot (K_{21} - \beta)}{V_c \cdot (\alpha - \beta)}$$

Donde,  $D$  es la dosis;  $V_c$  es el volumen del compartimento central;  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación respectivamente; y  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central.

II.22) Intercepción al origen de la fase de distribución [A] para un modelo bicompartimental y administración extravasal:

$$A = \frac{K_{abs} \cdot F \cdot D}{V_c \cdot (\alpha - \beta)} \cdot \frac{\alpha K_{21} - K_{21}}{K_{abs} - \alpha}$$

Donde,  $K_{abs}$  es la constante de absorción;  $F$  es la biodisponibilidad;  $D$  es la dosis;  $V_c$  es el volumen del compartimento central;  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación respectivamente; y  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central.

II.23) Intercepción al origen de la fase de eliminación [B] para un modelo bicompartimental y administración extravasal:

$$B = \frac{K_{abs} \cdot F \cdot D}{V_c \cdot (\alpha - \beta)} \cdot \frac{K_{21} - \beta}{K_{abs} - \beta}$$

Donde,  $K_{abs}$  es la constante de absorción;  $F$  es la biodisponibilidad;  $D$  es la dosis;  $V_c$  es el volumen del compartimento central;  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes híbridas de distribución y eliminación respectivamente; y  $K_{21}$  es la microconstante de transferencia desde el compartimento periférico superficial al compartimento central.

**Tabla II: Coeficientes de variación intradía para la enrofloxacinina analizada por HPLC**

		Día 1					Día 2						
Concent.	Iny 1	Iny 2	Iny 3	media	DE	CV	Concent.	Iny 1	Iny 2	Iny 3	media	DE	CV
10	1987256	2051246	2025946	2021483	32228	1,59	10	1823412	1785563	1812230	1807068	19445	1,08
5	965698	987845	981254	978266	11372	1,16	5	896953	924158	872549	897887	25817	2,88
3	452850	518233	486925	486003	32701	6,73	3	508509	528535	515928	517657	10124	1,96
2	333645	349973	392515	358711	30392	8,47	2	305815	304490	326958	312421	12607	4,04
1	160995	166772	153269	160345	6775	4,23	1	161642	158864	169884	163463	5731	3,51
0,5	64289	62040	71560	65963	4976	7,54	0,5	78108	67316	75445	73623	5622	7,64
0,25	38048	27349	33225	32874	5358	16,30	0,25	41695	38513	43505	41238	2527	6,13
0,1	15978	10569	19254	15267	4386	28,73	0,1	13954	11985	15228	13722	1634	11,91
					<b>media</b>	<b>9,34</b>						<b>media</b>	<b>4,89</b>
		Día 3					Día 4						
Concent.	Iny 1	Iny 2	Iny 3	media	DE	CV	Concent.	Iny 1	Iny 2	Iny 3	media	DE	CV
10	1989965	2063598	1982564	2012042	44802	2,23	10	1956825	1984253	1973598	1971559	13827	0,70
5	973256	997568	953362	974729	22140	2,27	5	986758	982599	996503	988620	7137	0,72
3	551022	512689	479258	514323	35910	6,98	3	589145	584034	590856	588012	3549	0,60
2	364842	327956	408892	367230	40521	11,03	2	378454	412333	395562	395450	16940	4,28
1	144813	184471	151590	160291	21213	13,23	1	223182	203439	204360	210327	11142	5,30
0,5	89183	87908	85840	87644	1687	1,92	0,5	78432	96316	88213	87654	8955	10,22
0,25	30154	30253	25469	28625	2734	9,55	0,25	40941	31632	38364	36979	4807	13,00
0,1	19425	16354	18547	18109	1582	8,73	0,1	13221	9873	11280	11458	1681	14,67
					<b>media</b>	<b>6,99</b>						<b>media</b>	<b>6,19</b>
		Día 5					Día 6						
Concent.	Iny 1	Iny 2	Iny 3	media	DE	CV	Concent.	Iny 1	Iny 2	Iny 3	media	DE	CV
10	1854986	1875362	1847795	1859381	14299	0,77	10	1924865	1943258	1982560	1950228	29472	1,51
5	936589	947256	943280	942375	5391	0,57	5	869985	875326	868945	871419	3424	0,39
3	557036	559563	560850	559150	1940	0,35	3	633968	633541	682580	650030	28190	4,34
2	390799	379383	379058	383080	6687	1,75	2	453927	431702	445785	443805	11244	2,53
1	207196	173047	213024	197756	21596	10,92	1	229940	211232	189225	210132	20380	9,70
0,5	93946	89062	88894	90634	2870	3,17	0,5	120500	101000	125236	115579	12846	11,11
0,25	28987	30477	19254	26239	6095	23,23	0,25	50684	47389	51258	49777	2088	4,19
0,1	14259	16902	18225	16462	2019	12,27	0,1	11985	15672	9589	12415	3064	24,68
					<b>media</b>	<b>6,63</b>						<b>media</b>	<b>7,31</b>

**Tabla III: Coeficientes de variación intradía para la ciprofloxacina analizada HPLC**

		Día 1				Día 2				Día 3				Día 4				Día 5				Día 6									
		Iny 1	Iny 2	Iny 3	media	DE	CV	Iny 1	Iny 2	Iny 3	media	DE	CV	Iny 1	Iny 2	Iny 3	media	DE	CV	Iny 1	Iny 2	Iny 3	media	DE	CV	Iny 1	Iny 2	Iny 3	media	DE	CV
<b>10</b>		1825632	1669248	1615844	1703575	109025	6,40	1836524	1878474	1868492	1861163	21914	1,18	1869569	1858427	1889984	1872660	16004	0,85	1754289	1784577	1762580	1767149	15652	0,89	1842365	1796695	1822260	1820440	22889	1,26
<b>5</b>		858664	834528	845563	846252	12083	1,43	796557	776653	802155	791788	13403	1,69	838633	824563	839595	834264	8415	1,01	756842	778542	789658	775014	16690	2,15	845682	868632	875041	863118	15437	1,79
<b>3</b>		477430	499502	459895	478942	19847	4,14	499265	520897	508055	509406	10879	2,14	589823	603099	589056	593993	7896	1,33	580827	568645	578142	575871	6401	1,11	580999	575215	559740	571985	10991	1,92
<b>2</b>		337501	318703	295480	317228	21049	6,64	320150	299264	315985	311800	11054	3,55	398894	381786	389114	389931	8583	2,20	389612	378546	365844	378001	11893	3,15	394303	410201	489302	431269	50883	11,80
<b>1</b>		143777	154723	161257	153252	8832	5,76	154551	169935	174656	166381	10513	6,32	201994	197012	206482	201829	4737	2,35	214603	207277	225848	215909	9354	4,33	191844	185250	215556	197550	15938	8,07
<b>0,5</b>		85191	77895	89254	84113	5756	6,84	78045	72883	82889	77939	5004	6,42	94948	89434	98776	94386	4696	4,98	97558	107424	115428	106803	8951	8,38	103532	99046	113220	105266	7244	6,88
<b>0,25</b>		33357	38793	32659	34936	3358	9,61	33256	34182	35584	34341	1172	3,41	48022	44566	41336	44641	3344	7,49	48678	66678	60894	58750	9190	15,64	46053	42843	56987	48628	7415	15,25
<b>0,1</b>		11985	8457	12520	10987	2208	20,09	9946	9424	12541	10637	1669	15,69	8586	7912	11487	9328	1900	20,36	9658	6788	11251	9232	2262	24,50	7989	7115	11589	8898	2371	26,65
						Media CV				Media CV				Media CV				Media CV				Media CV									
						<b>7,61</b>				<b>5,05</b>				<b>5,07</b>				<b>7,52</b>				<b>9,20</b>									

**Tabla IV. Coeficientes de variación inter-día para enrofloxacin y ciprofloxacina analizadas HPLC**

**CIPROFLOXACINA**

<b>Concent.</b>	<b>1er día</b>	<b>2do día</b>	<b>3er día</b>	<b>4to día</b>	<b>5to día</b>	<b>6to día</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>CV</b>
10	1703575	1861163	1982637	1872660	1820440	1767149	<b>1834604</b>	95903	5,23
5	846252	791788	771974	834264	863118	775014	<b>813735</b>	39096	4,80
3	459895	509406	494590	593993	571985	575871	<b>534290</b>	53748	10,06
2	295480	311800	331071	389931	431269	378001	<b>356259</b>	52035	14,61
1	161257	166381	163537	201829	197550	215909	<b>184411</b>	23516	12,75
0,5	89254	77939	82889	94386	105266	106803	<b>92756</b>	11710	12,62
0,25	32659	34341	37067	44641	48628	58750	<b>42681</b>	9989	23,40
0,1	12520	10637	11633	9328	8898	9232	<b>10375</b>	1472	14,19
							<b>Media</b>		<b>12,21</b>

**ENROFLOXACINA**

<b>Concent.</b>	<b>1er día</b>	<b>2do día</b>	<b>3er día</b>	<b>4to día</b>	<b>5to día</b>	<b>6to día</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>CV</b>
10	2021483	1807068	2012042	1971559	1859381	1950228	<b>1936960</b>	86076	4,44
5	978266	897887	974729	988620	942375	871419	<b>942216</b>	47932	5,09
3	486003	517657	514323	588012	559150	650030	<b>552529</b>	59851	10,83
2	358711	312421	367230	395450	383080	443805	<b>376783</b>	43452	11,53
1	160345	163463	160291	210327	197756	210132	<b>183719</b>	24933	13,57
0,5	65963	73623	87644	87654	90634	115579	<b>86850</b>	17042	19,62
0,25	32874	41238	28625	36979	26239	49777	<b>35955</b>	8691	24,17
0,1	15267	13722	18109	11458	16462	12415	<b>14572</b>	2515	17,26
							<b>Media</b>		<b>13,32</b>

**Tabla V.** Recuperación de ciprofloxacina (%) a partir de plasma ovino para distintas concentraciones del fármaco (0.1, 1 y 10 µg/ml) (valores promedios de 3 determinaciones para cada concentración)

Concentración (mg/ml)	Recuperación de ciprofloxacina (%)						Media ±	DE
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6		
0.1	71,23	69,91	67,56	66,47	70,02	72,20	69,73	2,17
1	82,43	83,36	80,7	86,6	86,44	85,98	84,25	2,45
10	84,59	84,52	85,95	86,59	83,73	83,91	84,88	1,15
Media	79,42	79,26	78,07	79,89	80,06	80,70	79,57	1,92
DE	7,17	8,12	9,47	11,62	8,80	7,43		

**Tabla VI.** Recuperación de enrofloxacin (%) a partir de plasma ovino para distintas concentraciones del fármaco (0.1, 1 y 10 µg/ml) (valores promedios de 3 determinaciones para cada concentración)

Concentración (mg/ml)	Recuperación de enrofloxacin (%)						Media ±	DE
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6		
0.1	72,88	75,25	77,6	79,59	70,48	66,85	73,78	4,70
1	84,63	80,54	79,6	85,69	83,55	86,58	83,43	2,81
10	86,95	86,18	87,64	88,89	84,54	86,71	86,82	1,46
Media	81,49	80,66	81,61	84,72	79,52	80,05	81,34	6,77
DE	7,54	5,47	5,31	4,72	7,85	11,43		

**Tabla VII.** Recuperación de ciprofloxacina en plasma a una concentración de 0,1 microgramos / mL

		ABC solución patrón	ABC estándar en plasma	Porcentaje de recuperación
día 1	0,1a	13968	10221	73,17
	0,1b	13254	9257	69,84
	0,1c	13532	9553	70,60
	<b>media</b>	<b>13585</b>	<b>9677</b>	<b>71,23</b>
	<b>DE</b>	<b>360</b>	<b>494</b>	
	<b>CV</b>	<b>2,65</b>	<b>5,10</b>	
día 2	0,1a	13246	9685	73,12
	0,1b	13248	8808	66,49
	0,1c	12824	8995	70,14
	<b>media</b>	<b>13106</b>	<b>9163</b>	<b>69,91</b>
	<b>DE</b>	<b>244</b>	<b>462</b>	
	<b>CV</b>	<b>1,86</b>	<b>5,04</b>	
día 3	0,1a	14859	10821	72,82
	0,1b	14584	9549	65,48
	0,1c	15248	9825	64,43
	<b>media</b>	<b>14897</b>	<b>10065</b>	<b>67,56</b>
	<b>DE</b>	<b>334</b>	<b>669</b>	
	<b>CV</b>	<b>2,24</b>	<b>6,65</b>	
día 4	0,1a	12295	8249	67,09
	0,1b	12848	8857	68,94
	0,1c	11428	7204	63,04
	<b>media</b>	<b>12190</b>	<b>8103</b>	<b>66,47</b>
	<b>DE</b>	<b>716</b>	<b>836</b>	
	<b>CV</b>	<b>5,87</b>	<b>10,32</b>	
día 5	0,1a	12140	8552	70,44
	0,1b	12233	9280	75,86
	0,1c	12846	8228	64,05
	<b>media</b>	<b>12406</b>	<b>8687</b>	<b>70,02</b>
	<b>DE</b>	<b>384</b>	<b>539</b>	
	<b>CV</b>	<b>3,09</b>	<b>6,20</b>	
día 6	0,1a	11055	8223	74,38
	0,1b	11882	8910	74,99
	0,1c	11235	7880	70,14
	<b>media</b>	<b>11391</b>	<b>8338</b>	<b>73,20</b>
	<b>DE</b>	<b>435</b>	<b>524</b>	
	<b>CV</b>	<b>3,82</b>	<b>6,29</b>	
<b>Media general</b>				<b>69,73</b>

ABC: área bajo la curva; DE: desvío estándar; CV: coeficiente de variación

**Tabla VIII.** Recuperación de ciprofloxacina en plasma a una concentración de 1 microgramo / mL

		ABC solución patrón	ABC estándar en plasma	Porcentaje de recuperación
día 1	1a	185998	149250	80,24
	1b	179654	154258	85,86
	1c	175254	142365	81,23
	<b>media</b>	<b>180302</b>	<b>148624</b>	<b>82,43</b>
	<b>DE</b>	<b>5401</b>	<b>5971</b>	
	<b>CV</b>	<b>3,00</b>	<b>4,02</b>	
día 2	1a	182264	162243	89,02
	1b	184546	148948	80,71
	1c	177533	142589	80,32
	<b>media</b>	<b>181448</b>	<b>151260</b>	<b>83,36</b>
	<b>DE</b>	<b>3577</b>	<b>10029</b>	
	<b>CV</b>	<b>1,97</b>	<b>6,63</b>	
día 3	1a	188477	158189	83,93
	1b	192648	142894	74,17
	1c	185698	156336	84,19
	<b>media</b>	<b>188941</b>	<b>152473</b>	<b>80,70</b>
	<b>DE</b>	<b>3498</b>	<b>8347</b>	
	<b>CV</b>	<b>1,85</b>	<b>5,47</b>	
día 4	1a	218866	199503	91,15
	1b	202489	172398	85,14
	1c	199245	165558	83,09
	<b>media</b>	<b>206867</b>	<b>179153</b>	<b>86,60</b>
	<b>DE</b>	<b>10518</b>	<b>17952</b>	
	<b>CV</b>	<b>5,08</b>	<b>10,02</b>	
día 5	1a	223369	188547	84,41
	1b	197584	169489	85,78
	1c	205589	183548	89,28
	<b>media</b>	<b>208847</b>	<b>180528</b>	<b>86,44</b>
	<b>DE</b>	<b>13198</b>	<b>9881</b>	
	<b>CV</b>	<b>6,32</b>	<b>5,47</b>	
día 6	1a	231548	210940	91,10
	1b	214456	169585	79,08
	1c	220548	192544	87,30
	<b>media</b>	<b>222184</b>	<b>191023</b>	<b>85,98</b>
	<b>DE</b>	<b>8663</b>	<b>20719</b>	
	<b>CV</b>	<b>3,90</b>	<b>10,85</b>	
Media general				<b>84,25</b>

ABC: área bajo la curva; DE: desvío estándar; CV: coeficiente de variación

**Tabla IX.** Recuperación de ciprofloxacina en plasma a una concentración de 10 microgramos / mL

		ABC solución patrón	ABC estándar en plasma	Porcentaje de recuperación
día 1	10a	2112245	1747440	82,73
	10b	2102459	1784256	84,87
	10c	2118225	1825422	86,18
	<b>media</b>	<b>2110976</b>	<b>1785706</b>	<b>84,59</b>
	<b>DE</b>	<b>7959</b>	<b>39011</b>	
	<b>CV</b>	<b>0,38</b>	<b>2,18</b>	
día 2	10a	2185846	1857499	84,98
	10b	2192336	1824587	83,23
	10c	2195148	1873658	85,35
	<b>media</b>	<b>2191110</b>	<b>1851915</b>	<b>84,52</b>
	<b>DE</b>	<b>4771</b>	<b>25008</b>	
	<b>CV</b>	<b>0,22</b>	<b>1,35</b>	
día 3	10a	2233955	1981720	88,71
	10b	2143120	1855230	86,57
	10c	2212465	1826450	82,55
	<b>media</b>	<b>2196513</b>	<b>1887800</b>	<b>85,95</b>
	<b>DE</b>	<b>47472</b>	<b>82600</b>	
	<b>CV</b>	<b>2,16</b>	<b>4,38</b>	
día 4	10a	2188496	1863998	85,17
	10b	2122645	1825540	86,00
	10c	2202102	1950423	88,57
	<b>media</b>	<b>2171081</b>	<b>1879987</b>	<b>86,59</b>
	<b>DE</b>	<b>42495</b>	<b>63958</b>	
	<b>CV</b>	<b>1,96</b>	<b>3,40</b>	
día 5	10a	2199852	1819530	82,71
	10b	2176329	1855515	85,26
	10c	2205598	1835560	83,22
	<b>media</b>	<b>2193926</b>	<b>1836868</b>	<b>83,73</b>
	<b>DE</b>	<b>15508</b>	<b>18028</b>	
	<b>CV</b>	<b>0,71</b>	<b>0,98</b>	
día 6	10a	2190652	1769433	80,77
	10b	2214586	1925174	86,93
	10c	2242238	1883450	84,00
	<b>media</b>	<b>2215825</b>	<b>1859352</b>	<b>83,91</b>
	<b>DE</b>	<b>25815</b>	<b>80618</b>	
	<b>CV</b>	<b>1,17</b>	<b>4,34</b>	
Media general				<b>84,88</b>

**ABC:** área bajo la curva; **DE:** desvío estándar; **CV:** coeficiente de variación



**Tabla X.** Recuperación de enrofloxacin en plasma a una concentración de 0,1 microgramos / mL

		ABC solución patrón	ABC estándar en plasma	Porcentaje de recuperacion
día 1	0,1a	17165	13274	77,33
	0,1b	15994	10936	68,38
	0,1c	17246	12524	72,62
	<b>media</b>	<b>16802</b>	<b>12245</b>	<b>72,88</b>
	<b>DE</b>	<b>701</b>	<b>1194</b>	
	<b>CV</b>	<b>4,17</b>	<b>9,75</b>	
día 2	0,1a	16956	12970	76,49
	0,1b	16231	11212	69,08
	0,1c	17356	13854	79,82
	<b>media</b>	<b>16848</b>	<b>12679</b>	<b>75,25</b>
	<b>DE</b>	<b>570</b>	<b>1345</b>	
	<b>CV</b>	<b>3,38</b>	<b>10,61</b>	
día 3	0,1a	18894	17890	94,69
	0,1b	17746	11752	66,22
	0,1c	17195	12136	70,58
	<b>media</b>	<b>17945</b>	<b>13926</b>	<b>77,60</b>
	<b>DE</b>	<b>867</b>	<b>3438</b>	
	<b>CV</b>	<b>4,83</b>	<b>24,69</b>	
día 4	0,1a	15352	11547	75,21
	0,1b	18489	14889	80,53
	0,1c	16235	13421	82,67
	<b>media</b>	<b>16692</b>	<b>13286</b>	<b>79,59</b>
	<b>DE</b>	<b>1618</b>	<b>1675</b>	
	<b>CV</b>	<b>9,69</b>	<b>12,61</b>	
día 5	0,1a	17298	15581	90,07
	0,1b	16992	12168	71,61
	0,1c	16211	11562	71,32
	<b>media</b>	<b>16834</b>	<b>11865</b>	<b>70,48</b>
	<b>DE</b>	<b>552</b>	<b>429</b>	
	<b>CV</b>	<b>3,28</b>	<b>3,61</b>	
día 6	0,1a	17124	13829	80,76
	0,1b	15234	9125	59,90
	0,1c	15894	11684	73,51
	<b>media</b>	<b>15564</b>	<b>10405</b>	<b>66,85</b>
	<b>DE</b>	<b>467</b>	<b>1809</b>	
	<b>CV</b>	<b>3,00</b>	<b>17,39</b>	
Media general				<b>73,55</b>

ABC: área bajo la curva; DE: desvío estándar; CV: coeficiente de variación

**Tabla XI.** Recuperación de enrofloxacin en plasma a una concentración de 1 microgramo / mL

		ABC solución patrón	ABC estándar en plasma	Porcentaje de recuperacion
día 1	1a	198254	163884	82,66
	1b	195364	165984	84,96
	1c	202465	174589	86,23
	<b>media</b>	<b>198694</b>	<b>168152</b>	<b>84,63</b>
	<b>DE</b>	<b>3571</b>	<b>5672</b>	
	<b>CV</b>	<b>1,80</b>	<b>3,37</b>	
	día 2	1a	198956	160253
1b		195892	154698	78,97
1c		204563	167835	82,05
<b>media</b>		<b>199804</b>	<b>160929</b>	<b>80,54</b>
<b>DE</b>		<b>4397</b>	<b>6595</b>	
<b>CV</b>		<b>2,20</b>	<b>4,10</b>	
día 3		1a	205468	164642
	1b	192458	153287	79,65
	1c	207856	164298	79,04
	<b>media</b>	<b>201927</b>	<b>160742</b>	<b>79,60</b>
	<b>DE</b>	<b>8287</b>	<b>6459</b>	
	<b>CV</b>	<b>4,10</b>	<b>4,02</b>	
	día 4	1a	194279	173311
1b		204698	176313	86,13
1c		198246	162153	81,79
<b>media</b>		<b>199074</b>	<b>170592</b>	<b>85,69</b>
<b>DE</b>		<b>5259</b>	<b>7461</b>	
<b>CV</b>		<b>2,64</b>	<b>4,37</b>	
día 5		1a	218215	190122
	1b	209458	182742	87,25
	1c	212152	173648	81,85
	<b>media</b>	<b>213275</b>	<b>178195</b>	<b>83,55</b>
	<b>DE</b>	<b>1905</b>	<b>6430</b>	
	<b>CV</b>	<b>0,89</b>	<b>3,61</b>	
	día 6	1a	239254	220586
1b		194289	162458	83,62
1c		204258	182587	89,39
<b>media</b>		<b>199274</b>	<b>172523</b>	<b>86,58</b>
<b>DE</b>		<b>7049</b>	<b>14233</b>	
<b>CV</b>		<b>3,54</b>	<b>8,25</b>	
				<b>Media general</b>

ABC: área bajo la curva; DE: desvío estándar; CV: coeficiente de variación

**Tabla XII.** Recuperación de enrofloxacin en plasma a una concentración de 10 microgramos / mL

		ABC solución patrón	ABC estándar en plasma	Porcentaje de recuperacion
día 1	10a	2248060	2019251	89,82
	10b	2192842	1858940	84,77
	10c	2218456	1912348	86,20
	<b>media</b>	<b>2219786</b>	<b>1930180</b>	<b>86,95</b>
	<b>DE</b>	<b>27633</b>	<b>81630</b>	
	<b>CV</b>	<b>1,24</b>	<b>4,23</b>	
día 2	10a	2135820	1804488	84,49
	10b	2194156	1924587	87,71
	10c	2171542	1873658	86,28
	<b>media</b>	<b>2167173</b>	<b>1867578</b>	<b>86,18</b>
	<b>DE</b>	<b>29412</b>	<b>60280</b>	
	<b>CV</b>	<b>1,36</b>	<b>3,23</b>	
día 3	10a	2214859	2026782	91,51
	10b	2122015	1810254	85,31
	10c	2170251	1865843	85,97
	<b>media</b>	<b>2169042</b>	<b>1900960</b>	<b>87,64</b>
	<b>DE</b>	<b>46434</b>	<b>112454</b>	
	<b>CV</b>	<b>2,14</b>	<b>5,92</b>	
día 4	10a	2104786	1970539	93,62
	10b	1983558	1690254	85,21
	10c	1970265	1724589	87,53
	<b>media</b>	<b>2019536</b>	<b>1795127</b>	<b>88,89</b>
	<b>DE</b>	<b>74127</b>	<b>152878</b>	
	<b>CV</b>	<b>3,67</b>	<b>8,52</b>	
día 5	10a	2156984	1865174	86,47
	10b	2165470	1795515	82,92
	10c	2119852	1835560	86,59
	<b>media</b>	<b>2147435</b>	<b>1815538</b>	<b>84,54</b>
	<b>DE</b>	<b>32257</b>	<b>28316</b>	
	<b>CV</b>	<b>1,50</b>	<b>1,56</b>	
día 6	10a	2325548	1934062	83,17
	10b	2215620	1895174	85,54
	10c	2245655	1973345	87,87
	<b>media</b>	<b>2230638</b>	<b>1934260</b>	<b>86,71</b>
	<b>DE</b>	<b>21238</b>	<b>55275</b>	
	<b>CV</b>	<b>0,95</b>	<b>2,86</b>	
Media general				<b>86,82</b>

ABC: área bajo la curva; DE: desvío estándar; CV: coeficiente de variación

**Tabla XIII.** Coeficientes de variación para estándares de ciprofloxacina y enrofloxacina en músculo

<b>CV musculo enrofloxacina</b>												
concentrac.	dia 1			dia 2			dia 3			Media	DE	CV
	iny 1	iny 2	iny 3	iny 3	iny 4	iny 5	iny 5	iny 6	iny 6			
0,05	38239	44543	32828	45268	35894	43452	40037,33	5344	13.35			
0,1	86328	106447	78665	108790	92569	82365	92527,33	12587	13,60			
0,25	202244	217823	189393	198956	168258	183259	193322,17	17067	5.49			
0,5	425345	395698	358939	419146	382556	397156	396473	24295	6,13			

<b>CV musculo ciprofloxacina</b>												
concentrac.	dia 1			dia 2			dia 3			Media	DE	CV
	iny 1	iny 2	iny 3	iny 3	iny 4	iny 5	iny 5	iny 6	iny 6			
0,05	14306	18845	16225	14394	19849	12566	16031	2835	17.69			
0,1	33156	34852	31425	39025	24258	37512	33371	5257	15.75			
0,25	70520	62580	68234	63249	68402	57258	65041	4927	7.57			
0,5	153692	142403	148328	151278	139258	156232	145532	6589	4.44			

**Tabla XIV.** Coeficientes de variación de estándares de enrofloxacina y ciprofloxacina en hígado

<b>CV musculo enrofloxacina</b>										
<b>concentrac.</b>	<b>dia 1</b>			<b>dia 2</b>			<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>CV</b>	
	<b>iny 1</b>	<b>iny 2</b>	<b>iny 3</b>	<b>iny 4</b>	<b>iny 5</b>					
0,05	37548	46954	56524	50223	47812,25	7911,97	16,55			
0,1	79397	123760	71544	74213	87228,50	24571,59	28,17			
0,25	204244	206207	215987	224668	212776,50	9445,93	4,44			
0,5	412627	382587	412828	324170	383053,00	41747,64	10,90			
1	726458	789254	675449	749254	735103,75	47490,06	6,46			

<b>CV hígado ciprofloxacina</b>										
<b>concentrac.</b>	<b>dia 1</b>			<b>dia 2</b>			<b>dia 3</b>			<b>CV</b>
	<b>iny 1</b>	<b>iny 2</b>	<b>iny 3</b>	<b>iny 4</b>	<b>iny 5</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>CV</b>		
0,1	30300	32348	47859	58941	41556	42200,80	11740,66	27,82		
0,25	60474	74161	54289	59256	69845	63605,00	8152,78	12,82		
0,5	146019	151064	140149	157900	139751	146976,60	7677,40	5,22		
1	296345	315248	325462	292548	298450	305610,60	14095,34	4,61		

**Tabla XV.** Coeficientes de variación de estándares de ciprofloxacina y enrofloxacina en riñón

<b>CV riñón enrofloxacina</b>												
<b>concentrac.</b>	<b>dia 1</b>			<b>dia 2</b>			<b>dia 3</b>			<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>CV</b>
	<b>iny 1</b>	<b>iny 2</b>	<b>iny 3</b>	<b>iny 4</b>	<b>iny 5</b>	<b>iny 6</b>	<b>iny 5</b>	<b>iny 6</b>	<b>iny 6</b>			
0,10	79658	82548	95513	102809	104225	96478	93538,50	10258,09	10,97			
0,25	213548	201663	197398	216789	205332	214521	208208,50	7873,60	3,78			
0,50	436894	445845	425025	467331	465181	443021	447216,17	16406,20	3,67			
1,00	872145	864852	865947	821152	845789	825246	849188,50	22018,35	2,59			

<b>CV riñón enrofloxacina</b>												
<b>concentrac.</b>	<b>dia 1</b>			<b>dia 2</b>			<b>dia 3</b>			<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>CV</b>
	<b>iny 1</b>	<b>iny 2</b>	<b>iny 3</b>	<b>iny 4</b>	<b>iny 5</b>	<b>iny 6</b>	<b>iny 5</b>	<b>iny 6</b>	<b>iny 6</b>			
0,10	25965	21237	34183	29645	38259	16359	27608,00	8132,07	29,46			
0,25	73258	48369	52658	64289	74588	68952	63685,67	10906,86	17,13			
0,50	130055	146807	158215	136589	145821	132859	141724,33	10542,27	7,44			
1,00	325698	295816	332586	252891	321548	289548	303014,50	29926,70	9,88			

**Tabla XVI.** Ensayo recuperación de enrofloxacin en músculo a todas las concentraciones**Recuperación de enrofloxacin en musculo 0,5 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	Porcentaje recuperacion
día 1	565695	425345	
	569558	395698	
día 2	558695	358939	
	555889	419146	
día 3	569658	382556	
	572659	397156	
<b>media</b>	<b>565359</b>	<b>396473</b>	<b>70,13</b>
<b>DE</b>	<b>6687</b>	<b>24295</b>	
<b>CV</b>	<b>1,18</b>	<b>6,13</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en musculo 0,25 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	Porcentaje recuperacion
día 1	265225	202244	
	261525	217823	
día 2	263267	189393	
	271210	198956	
día 3	262589	168258	
	268447	183259	
<b>media</b>	<b>265377</b>	<b>193322</b>	<b>72,85</b>
<b>DE</b>	<b>4142</b>	<b>10607</b>	
<b>CV</b>	<b>1,56</b>	<b>5,49</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en musculo 0,1 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	Porcentaje recuperacion
día 1	135258	86328	
	139858	106447	
día 2	132478	78665	
	134848	108790	
día 3	132565	92569	
	130225	82365	
<b>media</b>	<b>134205</b>	<b>92527</b>	<b>68,94</b>
<b>DE</b>	<b>3316</b>	<b>12587</b>	
<b>CV</b>	<b>2,47</b>	<b>13,60</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en musculo 0,05 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	Porcentaje recuperacion
día 1	78596	38239	
	76985	44543	
día 2	75698	32828	
	77458	45268	
día 3	68958	35894	
	66259	43452	
<b>media</b>	<b>73992</b>	<b>40037</b>	<b>54,11</b>
<b>DE</b>	<b>1908</b>	<b>5344</b>	
<b>CV</b>	<b>2,58</b>	<b>13,35</b>	

**Media general** **66,51**

**Tabla XVII. Ensayo recuperación de ciprofloxacina en músculo a todas las concentraciones****Recuperación de ciprofloxacina en musculo 0,5 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	Porcentaje recuperacion
día 1	190254	153692	
	191253	142403	
día 2	189556	148328	
	188536	151278	
día 3	188223	139258	
	189447	156232	
<b>media</b>	<b>189545</b>	<b>148532</b>	<b>78,36</b>
<b>DE</b>	<b>1113</b>	<b>6589</b>	
<b>CV</b>	<b>0,59</b>	<b>4,44</b>	

**Recuperación de ciprofloxacina en musculo 0,25 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	% recuperacion
día 1	98569	70520	
	97256	62580	
día 2	98221	68234	
	94325	63249	
día 3	95214	68402	
	97474	57258	
<b>media</b>	<b>96843</b>	<b>65041</b>	<b>67,16</b>
<b>DE</b>	<b>1699</b>	<b>4927</b>	
<b>CV</b>	<b>1,75</b>	<b>7,57</b>	

**Recuperación de ciprofloxacina en musculo 0,1 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	% recuperacion
día 1	52452	33156	
	48257	34852	
día 2	52889	31425	
	54120	39025	
día 3	49587	24258	
	52880	37512	
<b>media</b>	<b>51698</b>	<b>33371</b>	<b>64,55</b>
<b>DE</b>	<b>2260</b>	<b>5257</b>	
<b>CV</b>	<b>4,37</b>	<b>15,75</b>	

**Recuperación de ciprofloxacina en musculo 0,05 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	% recuperacion
día 1	21852	14306	
	24568	18845	
día 2	25698	16225	
	29684	14394	
día 3	22698	19849	
	28339	12566	
<b>media</b>	<b>25473</b>	<b>16031</b>	<b>62,93</b>
<b>DE</b>	<b>3086</b>	<b>2835</b>	
<b>CV</b>	<b>12,12</b>	<b>17,69</b>	

**Media general** **68,25**



**Tabla XVIII.** Ensayo recuperación de enrofloxacin en hígado a todas las concentraciones**Recuperación de enrofloxacin en hígado 1 microgramo / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	Porcentaje recuperacion
día 1	980252	726458	
	984220	789254	
día 2	988556	675449	
	992225	749254	
<b>media</b>	<b>986313</b>	<b>735104</b>	<b>74,53</b>
<b>DE</b>	<b>5199</b>	<b>47490</b>	
<b>CV</b>	<b>0,53</b>	<b>6,46</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en hígado 0,5 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	% recuperacion
día 1	528457	412627	
	529557	382587	
día 2	532625	412828	
	535875	324170	
<b>media</b>	<b>531629</b>	<b>383053</b>	<b>72,05</b>
<b>DE</b>	<b>3335</b>	<b>41748</b>	
<b>CV</b>	<b>0,63</b>	<b>10,90</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en hígado 0,25 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	% recuperacion
día 1	268323	204244	
	272310	206207	
día 2	268205	215987	
	266390	224668	
<b>media</b>	<b>268807</b>	<b>212777</b>	<b>79,16</b>
<b>DE</b>	<b>2497</b>	<b>9446</b>	
<b>CV</b>	<b>0,93</b>	<b>4,44</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en hígado 0,1 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	% recuperacion
día 1	135258	79397	
	139858	123760	
día 2	138254	71544	
	134202	74213	
<b>media</b>	<b>136893</b>	<b>87229</b>	<b>63,72</b>
<b>DE</b>	<b>2618</b>	<b>24572</b>	
<b>CV</b>	<b>1,91</b>	<b>28,17</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en hígado 0,05 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	% recuperacion
día 1	68125	37548	
	72798	46954	
día 2	72144	56524	
	69399	50223	
<b>media</b>	<b>70617</b>	<b>47812</b>	<b>67,71</b>
<b>DE</b>	<b>2220</b>	<b>7912</b>	
<b>CV</b>	<b>3,14</b>	<b>16,55</b>	

**Media general** **71,43**

**Tabla XIX.** Ensayo recuperación de enrofloxacin en hígado a todas las concentraciones**Recuperación de enrofloxacin en hígado 1 microgramo / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	Porcentaje recuperacion
día 1	980252	726458	
	984220	789254	
día 2	988556	675449	
	992225	749254	
<b>media</b>	<b>986313</b>	<b>735104</b>	<b>74,53</b>
<b>DE</b>	<b>5199</b>	<b>47490</b>	
<b>CV</b>	<b>0,53</b>	<b>6,46</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en hígado 0,5 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	Porcentaje recuperacion
día 1	528457	412627	
	529557	382587	
día 2	532625	412828	
	535875	324170	
<b>media</b>	<b>531629</b>	<b>383053</b>	<b>72,05</b>
<b>DE</b>	<b>3335</b>	<b>41748</b>	
<b>CV</b>	<b>0,63</b>	<b>10,90</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en hígado 0,25 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	Porcentaje recuperacion
día 1	268323	204244	
	272310	206207	
día 2	268205	215987	
	266390	224668	
<b>media</b>	<b>268807</b>	<b>212777</b>	<b>79,16</b>
<b>DE</b>	<b>2497</b>	<b>9446</b>	
<b>CV</b>	<b>0,93</b>	<b>4,44</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en hígado 0,1 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	Porcentaje recuperacion
día 1	135258	79397	
	139858	123760	
día 2	138254	71544	
	134202	74213	
<b>media</b>	<b>136893</b>	<b>87229</b>	<b>63,72</b>
<b>DE</b>	<b>2618</b>	<b>24572</b>	
<b>CV</b>	<b>1,91</b>	<b>28,17</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en hígado 0,05 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en musculo	Porcentaje recuperacion
día 1	68125	37548	
	72798	46954	
día 2	72144	56524	
	69399	50223	
<b>media</b>	<b>70617</b>	<b>47812</b>	<b>67,71</b>
<b>DE</b>	<b>2220</b>	<b>7912</b>	
<b>CV</b>	<b>3,14</b>	<b>16,55</b>	

**Media general** **71,43**

**Tabla XX.** Ensayo recuperación de ciprofloxacina en hígado a todas las concentraciones

**Recuperación de ciprofloxacina en hígado 1 microgramo / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en hígado	Porcentaje recuperacion
día 1	376894	296345	
	379514	315248	
	375589	325462	
	378221	292548	
	374587	298450	
<b>media</b>	<b>376961</b>	<b>305611</b>	<b>81,07</b>
<b>DE</b>	<b>1853</b>	<b>14095</b>	
<b>CV</b>	<b>0,49</b>	<b>4,61</b>	

**Recuperación de ciprofloxacina en hígado 0,5 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en hígado	Porcentaje recuperacion
día 1	188258	146019	
	185648	151064	
día 2	189698	140149	
	187554	157900	
	185645	139751	
<b>media</b>	<b>187361</b>	<b>146977</b>	<b>78,45</b>
<b>DE</b>	<b>1516</b>	<b>7677</b>	
<b>CV</b>	<b>0,81</b>	<b>5,22</b>	

**Recuperación de ciprofloxacina en hígado 0,25 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en hígado	Porcentaje recuperacion
día 1	94659	60474	
	96212	74161	
día 2	96458	54289	
	94145	59256	
	95254	69845	
<b>media</b>	<b>95346</b>	<b>63605</b>	<b>66,71</b>
<b>DE</b>	<b>989</b>	<b>8153</b>	
<b>CV</b>	<b>1,04</b>	<b>12,82</b>	

**Recuperación de ciprofloxacina en hígado 0,1 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en hígado	Porcentaje recuperacion
día 1	54156	30300	
	56521	32348	
día 2	55369	47859	
	56284	58941	
	58521	41556	
<b>media</b>	<b>56170</b>	<b>42201</b>	<b>75,13</b>
<b>DE</b>	<b>1609</b>	<b>11741</b>	
<b>CV</b>	<b>2,87</b>	<b>27,82</b>	

**Media general** **75,34**

**Tabla XXI. Ensayo recuperación de enrofloxacin en riñón a todas las concentraciones**

**Recuperación de enrofloxacin en riñón 1 microgramo / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en riñón	Porcentaje recuperacion
día 1	985895	872145	
	986894	864852	
día 2	992563	865947	
	1013357	821152	
	995890	845789	
	1025488	825246	
<b>media</b>	<b>1000015</b>	<b>849189</b>	<b>84,92</b>
<b>DE</b>	<b>15943</b>	<b>22018</b>	
<b>CV</b>	<b>1,59</b>	<b>2,59</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en riñón 0,5 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en riñón	Porcentaje recuperacion
día 1	556584	436894	
	542563	445845	
día 2	559987	425025	
	564876	467331	
	562254	465181	
	548826	443021	
<b>media</b>	<b>555848</b>	<b>447216</b>	<b>80,46</b>
<b>DE</b>	<b>8556</b>	<b>16406</b>	
<b>CV</b>	<b>1,54</b>	<b>3,67</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en riñón 0,25 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en riñón	Porcentaje recuperacion
día 1	254895	213548	
	269954	201663	
día 2	272148	197398	
	261458	216789	
	263365	205332	
	264985	214521	
<b>media</b>	<b>264468</b>	<b>208209</b>	<b>78,73</b>
<b>DE</b>	<b>6185</b>	<b>7874</b>	
<b>CV</b>	<b>2,34</b>	<b>3,78</b>	

**Recuperación de enrofloxacin en riñón 0,1 microgramos / mL**

	AUC patrón	AUC estandar en riñón	Porcentaje recuperacion
día 1	132654	79658	
	134852	82548	
día 2	135254	95513	
	138554	102809	
	138369	104225	
	137954	96478	
<b>media</b>	<b>136273</b>	<b>90132</b>	<b>66,14</b>
<b>DE</b>	<b>2391</b>	<b>10907</b>	
<b>CV</b>	<b>1,75</b>	<b>12,10</b>	

**Media general** **77,56**

**Tabla XXIII:** parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa (calculados con el programa informático PKCALC)

<b>Parámetros</b>	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>	<b>Animal 8</b>	<b>media</b>	<b>DE</b>
<b>ABC<sub>0-t</sub></b> (µg·h/ml)	8,37	5,00	13,15	13,59	6,43	5,63	7,33	7,06	<b>8,32</b>	3,28
<b>ABC<sub>0-∞</sub></b> (µg·h/ml)	8,81	5,05	14,78	15,50	6,58	5,67	7,57	7,26	<b>8,90</b>	4,02
<b>ABCM<sub>0-t</sub></b> (µg·h·h/m)	23,14	9,17	44,25	47,00	14,34	9,41	17,80	16,27	<b>22,67</b>	14,88
<b>ABCM<sub>0-∞</sub></b> (µg·h·h/m)	28,97	9,78	67,57	74,77	16,12	9,86	20,87	18,83	<b>30,85</b>	25,71
<b>Vd<sub>ss</sub></b> (L/kg)	0,93	0,96	0,77	0,78	0,93	0,77	0,91	0,89	<b>0,87</b>	0,08
<b>β</b> (h <sup>-1</sup> )	1,52	1,00	2,08	2,20	1,20	0,92	1,32	1,27	<b>1,44</b>	0,47
<b>t<sub>1/2β</sub></b> (h)	2,19	1,45	3,00	3,17	1,73	1,33	1,91	1,83	<b>2,08</b>	0,68
<b>TMR</b> (h)	3,29	1,94	4,57	4,82	2,45	1,74	2,76	2,59	<b>3,02</b>	1,14
<b>Cl</b> (mL/h/Kg)	0,284	0,495	0,169	0,161	0,38	0,44	0,33	0,344	<b>0,33</b>	118,7

**ABC<sub>0-t</sub>**: área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t; **ABC<sub>0-∞</sub>**: área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito; **ABCM<sub>0-t</sub>**: área bajo la curva en el primer momento a tiempo t; **ABCM<sub>0-∞</sub>**: área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; **V<sub>ss</sub>**, volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario; **β**: constante híbrida de eliminación; **t<sub>1/2β</sub>**: vida media de eliminación; **TMR**: tiempo máximo de residencia; **Cl**: aclaramiento total.

**Tabla XXIV.** Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intravenosa (calculados mediante ecuaciones)

<b>PARAMETROS</b>	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>	<b>Animal 8</b>	<b>Media</b>	<b>Desvío</b>
<b>ABC<sub>0-t</sub></b> (µg·h/ml)	8,38	5,26	13,16	13,59	6,43	5,79	7,32	7,04	<b>8,37</b>	<b>3,23</b>
<b>ABC<sub>0-∞</sub></b> (µg·h/ml)	9,16	5,50	15,33	16,04	6,70	5,90	7,82	7,51	<b>9,24</b>	<b>4,14</b>
<b>ABCM<sub>0-t</sub></b> (µg·h·h/m)	23,22	11,38	44,29	46,93	14,30	10,81	17,73	16,20	<b>23,11</b>	<b>14,44</b>
<b>ABCM<sub>0-∞</sub></b> (µg·h·h/m)	33,51	12,05	53,94	59,33	15,12	11,04	19,13	17,53	<b>27,71</b>	<b>19,20</b>
<b>Vd<sub>(ss)</sub></b> (L/kg)	1,00	0,99	0,57	0,58	0,84	0,79	0,78	0,78	<b>0,79</b>	<b>0,16</b>
<b>Const. tasa eliminación</b>	0,32	0,41	0,23	0,22	0,40	0,47	0,36	0,38	<b>0,35</b>	<b>0,09</b>
<b>t1/2β</b> (h)	2,19	1,70	3,01	3,16	1,72	1,46	1,90	1,83	<b>2,12</b>	<b>0,63</b>
<b>TMR</b> (h)	3,66	2,19	3,52	3,70	2,26	1,87	2,45	2,33	<b>2,75</b>	<b>0,75</b>
<b>Cl</b> (mL/h/Kg)	0,27	0,45	0,16	0,16	0,37	0,42	0,32	0,33	<b>0,31</b>	<b>0,11</b>

**C<sub>max</sub>** : máxima concentración plasmáticas; **ABC<sub>(0-t)</sub>**: área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t; **ABC<sub>(0-∞)</sub>**: área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito; **ABCM<sub>(0-t)</sub>**: área bajo la curva en el primer momento a tiempo t; **ABCM<sub>(0-∞)</sub>**: área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; **V<sub>ss</sub>**, volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario; **t<sub>1/2β</sub>**: vida media de eliminación; **TMR**: tiempo máximo de residencia; **Cl**: aclaramiento total.

**Tabla XXV:** parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ciprofloxacina en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacina por vía intravenosa (calculados mediante ecuaciones) n=7

<b>PARÁMETROS</b>	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>	<b>Animal 8</b>	<b>Media</b>	<b>Desvío</b>
<b>ABC<sub>0-t</sub></b> (µg·h/ml)	1,52	1,12	1,33	1,20	1,45	1,37	1,60	<b>1,37</b>	0,17
<b>ABC<sub>0-∞</sub></b> (µg·h/ml)	2,96	3,81	1,95	1,65	2,39	1,86	2,15	<b>2,40</b>	0,76
<b>ABCM<sub>0-t</sub></b> (µg·h·h/m)	6,27	3,68	5,43	4,72	5,86	4,25	6,21	<b>5,20</b>	1,01
<b>ABCM<sub>0-∞</sub></b> (µg·h·h/m)	62,61	170,41	19,06	13,22	32,51	13,18	17,74	<b>46,96</b>	57,16
<b>Constante de tasa de eliminación</b>	0,03	0,02	0,08	0,11	0,05	0,10	0,09	<b>0,07</b>	0,04
<b>t<sub>1/2β</sub></b> (h)	20,06	37,35	8,49	6,21	12,91	6,90	7,62	<b>14,22</b>	11,29
<b>TMR</b> (h)	21,13	44,68	9,79	8,00	13,63	7,07	8,25	<b>16,08</b>	13,52
<b>Cl</b> (mL/h/Kg)	0,84	0,66	1,28	1,51	1,05	1,34	1,16	<b>1,12</b>	0,30

**C<sub>max</sub>**: máxima concentración plasmáticas; **T<sub>max</sub>**: tiempo de la máxima concentración plasmáticas; **ABC<sub>(0-t)</sub>**: área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t; **ABC<sub>(0-∞)</sub>**: área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito; **ABCM<sub>(0-t)</sub>**: área bajo la curva en el primer momento a tiempo t; **ABCM<sub>(0-∞)</sub>**: área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; **t<sub>1/2β</sub>**: vida media de eliminación; **TMR**: tiempo máximo de residencia; **Cl**: aclaramiento total.

**Tabla XXVI:** Discriminación de modelos farmacocinéticos compartimentales mediante la suma de los cuadrados (SC) de las desviaciones de las concentraciones plasmáticas estimadas (CE) con respecto a las concentraciones plasmáticas reales (CR), y mediante el valor F, determinados por el programa de regresión lineal CSTRIP, para la enrofloxacin administrada por vía intravenosa, a una dosis de 2.5 mg/kg

**MODELO MONOCOMPARTIMENTAL (MONOEXPONENCIAL)**

Tiempo	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	CR	CE	CR	CE	CR	CE	CR	CE
0.042	6.8300	3.2579	6.14	2.62	5.84	3.71	6.35	3.68
0.083	5.5300	3.2200	5.02	2.57	5.30	3.67	5.03	3.65
0.166	4.1300	3.1300	3.75	2.49	3.89	3.60	3.95	3.58
0.25	3.5700	3.0500	3.18	2.40	3.72	3.53	3.52	3.51
0.333	3.1100	2.9700	2.63	2.32	3.63	3.47	3.33	3.45
0.5	2.7300	2.8200	2.19	2.17	3.25	3.34	3.24	3.33
0.666	2.3200	2.6800	1.80	2.03	3.04	3.21	3.08	3.21
1	1.9100	2.4000	1.26	1.77	2.70	2.97	2.63	2.98
1.5	1.4600	2.0600	0.85	1.44	2.18	2.65	2.16	2.67
2	1.1700	1.7600	0.73	1.18	1.82	2.36	1.82	2.40
3	0.7900	1.2800	0.48	0.78	1.40	1.88	1.35	1.93
4	0.6100	0.9300	0.27	0.52	1.14	1.49	1.27	1.55
5	0.5200	0.6800	0.20	0.35	0.99	1.18	1.25	1.24
6	0.4300	0.4958	0.17	0.23	0.88	0.94	1.05	1.00
8	0.3000	0.2635	0.14	0.10	0.69	0.59	0.64	0.65
10	0.2500	0.1400	0.10	0.05	0.50	0.37	0.54	0.42
12								
24	SumatoriaSC 20.8578		SumatoriaSC 21.7114		SumatoriaSC 8.3979		SumatoriaSC 10.3536	

Tiempo	Animal 5		Animal 6		Animal 7		Animal 8	
	CR	CE	CR	CE	CR	CE	CR	CE
0.042	7.24	3.09	6.78	3.25	7.60	3.28	7.84	3.28
0.083	5.84	3.04	5.22	3.18	6.05	3.23	6.23	3.23
0.166	3.95	2.94	4.83	3.06	4.29	3.13	4.25	3.13
0.25	3.18	2.85	4.00	2.94	3.69	3.04	3.66	3.03
0.333	2.61	2.75	3.26	2.83	3.03	2.95	3.31	2.94
0.5	2.28	2.57	2.89	2.61	2.52	2.77	2.75	2.76
0.666	1.99	2.41	1.91	2.42	2.19	2.61	2.25	2.59
1	1.68	2.11	1.47	2.06	1.76	2.31	1.86	2.29
1.5	1.27	1.72	1.09	1.63	1.41	1.93	1.27	1.89
2	0.92	1.41	0.89	1.29	1.03	1.61	0.96	1.57
3	0.63	0.94	0.41	0.80	0.66	1.12	0.63	1.07
4	0.44	0.63	0.25	0.50	0.50	0.78	0.39	0.74
5	0.31	0.42	0.21	0.31	0.40	0.54	0.33	0.50
6	0.22	0.28	0.17	0.19	0.29	0.38	0.25	0.35
8	0.14	0.13	0.12	0.08	0.20	0.18	0.19	0.16
10	0.11	0.06	0.05	0.03	0.18	0.09	0.18	0.08
12								
24	SumatoriaSC 27.2163		SumatoriaSC 22.4368		SumatoriaSC 29.9539		SumatoriaSC 33.0513	



**Tabla XXVII:** Discriminación de modelos farmacocinéticos compartimentales mediante la suma de los cuadrados (SC) de las desviaciones de las concentraciones plasmáticas estimados (CE) con respecto a las concentraciones plasmáticas reales (CR), y mediante el valor F, determinados por el programa de regresión lineal CSTRIP, para la enrofloxacin administrada por vía intravenosa, a una dosis de 2.5 mg/kg

**MODELO BICOMPARTIMENTAL (BIEXPONENCIAL)**

Tiempo	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	CR	CE	CR	CE	CR	CE	CR	CE
0.042	6.8300	6.5455	6.14	5.91	5.84	5.76	6.35	6.23
0.083	5.5300	5.6343	5.02	5.12	5.30	5.09	5.03	5.14
0.166	4.1300	4.3225	3.75	3.91	3.89	4.17	3.95	3.93
0.25	3.5700	3.4852	3.18	3.10	3.72	3.62	3.52	3.39
0.333	3.1100	2.9575	2.63	2.55	3.63	3.29	3.33	3.13
0.5	2.7300	2.3820	2.19	1.91	3.25	2.94	3.24	2.91
0.666	2.3200	2.1102	1.80	1.58	3.04	2.77	3.08	2.79
1	1.9100	1.8454	1.26	1.28	2.70	2.56	2.63	2.62
1.5	1.4600	1.6043	0.85	1.05	2.18	2.31	2.16	2.37
2	1.1700	1.4056	0.73	0.88	1.82	2.09	1.82	2.16
3	0.7900	1.0801	0.48	0.63	1.40	1.71	1.35	1.78
4	0.6100	0.8300	0.27	0.45	1.14	1.40	1.27	1.46
5	0.5200	0.6378	0.20	0.32	0.99	1.14	1.25	1.21
6	0.4300	0.4901	0.17	0.23	0.88	0.93	1.05	1.00
8	0.3000	0.2894	0.14	0.11	0.69	0.63	0.64	0.68
10	0.2500	0.1709	0.10	0.06	0.50	0.42	0.54	0.46
	SumatoriaSC	0.5614	SumatoriaSC	0.3702	SumatoriaSC	0.7309	SumatoriaSC	0.6648

Tiempo	Animal 5		Animal 6		Animal 7		Animal 8	
	CR	CE	CR	CE	CR	CE	CR	CE
0.042	7.24	7.28	6.78	6.38	7.60	7.25	7.84	7.48
0.083	5.84	5.79	5.22	5.74	6.05	6.14	6.23	6.27
0.166	3.95	3.96	4.83	4.70	4.29	4.57	4.25	4.57
0.25	3.18	3.01	4.00	3.90	3.69	3.57	3.66	3.53
0.333	2.61	2.51	3.26	3.31	3.03	2.95	3.31	2.90
0.5	2.28	2.07	2.89	2.50	2.52	2.29	2.75	2.24
0.666	1.99	1.88	1.91	2.02	2.19	1.99	2.25	1.95
1	1.68	1.65	1.47	1.50	1.76	1.70	1.86	1.67
1.5	1.27	1.38	1.09	1.14	1.41	1.45	1.27	1.41
2	0.92	1.16	0.89	0.93	1.03	1.24	0.96	1.21
3	0.63	0.81	0.41	0.62	0.66	0.92	0.63	0.88
4	0.44	0.57	0.25	0.42	0.50	0.68	0.39	0.64
5	0.31	0.40	0.21	0.28	0.40	0.50	0.33	0.47
6	0.22	0.28	0.17	0.19	0.29	0.37	0.25	0.34
8	0.14	0.14	0.12	0.09	0.20	0.20	0.19	0.18
10	0.11	0.07	0.05	0.04	0.18	0.11	0.18	0.10
	SumatoriaSC	0.2353	SumatoriaSC	0.7088	SumatoriaSC	0.4958	SumatoriaSC	1.0709

**Tabla XXVIII:** Discriminación de modelos farmacocinéticos compartimentales, mediante la suma de los cuadrados (SC) de las desviaciones de las concentraciones plasmáticas estimados (CE) con respecto a las concentraciones plasmáticas reales (CR), y mediante el valor F, determinados por el programa de regresión lineal CSTRIP, para la enrofloxacin administrada por vía intravenosa, a una dosis de 2.5 mg/kg

**MODELO TRICOMPARTIMENTAL (TRIEXPONENCIAL)**

Tiempo	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	CR	CE	CR	CE	CR	CE	CR	CE
0.042	6.8300	6.8196	6.14	6.18	5.84	6.01	6.35	6.36
0.083	5.5300	5.5806	5.02	4.99	5.30	5.17	5.03	5.01
0.166	4.1300	4.1819	3.75	3.75	3.89	4.28	3.95	3.95
0.25	3.5700	3.4997	3.18	3.14	3.72	3.87	3.52	3.60
0.333	3.1100	3.1232	2.63	2.75	3.63	3.63	3.33	3.42
0.5	2.7300	2.6790	2.19	2.20	3.25	3.30	3.24	3.16
0.666	2.3200	2.3757	1.80	1.80	3.04	3.05	3.08	2.95
1	1.9100	1.9194	1.26	1.27	2.70	2.64	2.63	2.59
1.5	1.4600	1.4606	0.85	0.85	2.18	2.20	2.16	2.18
2	1.1700	1.1673	0.73	0.64	1.82	1.89	1.82	1.89
3	0.7900	0.8355	0.48	0.44	1.40	1.50	1.35	1.50
4	0.6100	0.6568	0.27	0.34	1.14	1.25	1.27	1.26
5	0.5200	0.5396	0.20	0.27	0.99	1.06	1.25	1.09
6	0.4300	0.4518	0.17	0.21	0.88	0.90	1.05	0.95
8	0.3000	0.3226	0.14	0.13	0.69	0.66	0.64	0.74
10	0.2500	0.2318	0.10	0.08	0.50	0.49	0.54	0.58
		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC
		0.0222		0.0394		0.2659		0.1171

Valores F 315.136102  
P 4.3579E-14

109.12886  
4.0255E-11

22.7297236  
7.4738E-07

60.8039147  
1.6671E-09

Tiempo	Animal 5		Animal 6		Animal 7		Animal 8	
	CR	CE	CR	CE	CR	CE	CR	CE
0.042	7.24	7.25	6.78	6.78	7.60	7.55	7.84	7.78
0.083	5.84	5.75	5.22	5.22	6.05	6.12	6.23	6.07
0.166	3.95	4.01	4.83	4.61	4.29	4.41	4.25	4.37
0.25	3.18	3.27	4.00	4.09	3.69	3.54	3.66	3.64
0.333	2.61	2.73	3.26	3.63	3.03	3.06	3.31	3.25
0.5	2.28	2.30	2.89	2.89	2.52	2.55	2.75	2.75
0.666	1.99	2.05	1.91	2.33	2.19	2.24	2.25	2.38
1	1.68	1.68	1.47	1.57	1.76	1.80	1.86	1.83
1.5	1.27	1.27	1.09	0.97	1.41	1.34	1.27	1.28
2	0.92	0.98	0.89	0.68	1.03	1.03	0.96	0.95
3	0.63	0.62	0.41	0.42	0.66	0.68	0.63	0.61
4	0.44	0.43	0.25	0.30	0.50	0.50	0.39	0.46
5	0.31	0.31	0.21	0.23	0.40	0.39	0.33	0.37
6	0.22	0.24	0.17	0.17	0.29	0.32	0.25	0.30
8	0.14	0.17	0.12	0.10	0.20	0.23	0.19	0.21
10	0.11	0.11	0.05	0.06	0.18	0.17	0.18	0.15
		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC
		0.0426		0.4457		0.0610		0.0784

Valores F 58.7921226  
P 2.0622E-09

7.67539678  
0.00036671

92.6568212  
1.1458E-10

164.601243  
2.8779E-12

Media de valores F 154.70634  
2.4447E-05

**Tabla XXIX.** Parámetros farmacocinéticos correspondientes a la enrofloxacin administrada por vía intravenosa a una dosis de 2.5 mg/kg, calculados a partir los datos surgidos del programa CSTRIP (intercepciones, por extrapolación, de las regresiones de cada una de las fases de la curva concentración plasmática-tiempo al tiempo cero A, B y P y constantes híbridas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$ ) y las ecuaciones de Gibaldi (1982), Boggot (1986) y Berrazpe-Plá Delfina (1997) para tres compartimientos. El animal 6 no fue tenido en cuenta debido a que los datos de  $\alpha$  y  $\alpha$  se encuentran muy lejos de la media de los otros animales, y se los considera valores marginales distorsivos.

PARAMETROS	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8	MEDIA	DE
<b>A</b> ( $\mu\text{g/ml}$ )	4,880	3,910	3,105	5,840	6,470	185,620	6,096	6,430	<b>5,25</b>	1,32
<b>alfa</b> (h-1)	11,070	14,800	13,180	21,280	9,900	119,000	9,542	13,640	<b>13,34</b>	4,01
<b>T<sub>1/2</sub>alfa</b> (h)	0,063	0,047	0,053	0,033	0,070	0,006	0,073	0,051	<b>0,06</b>	0,01
<b>P</b> ( $\mu\text{g/ml}$ )	2,680	3,480	2,098	1,790	2,460	4,990	2,779	3,490	<b>2,68</b>	0,64
<b>pi</b> (h-1)	1,090	1,768	1,079	1,200	0,740	1,730	0,909	1,130	<b>1,13</b>	0,32
<b>T<sub>1/2</sub> pi</b> (h)	0,636	0,392	0,642	0,578	0,936	0,401	0,762	0,613	<b>0,65</b>	0,17
<b>B</b> ( $\mu\text{g/ml}$ )	1,200	0,850	2,237	2,370	0,600	0,900	0,793	0,828	<b>1,27</b>	0,73
<b><math>\beta</math></b> (h-1)	0,165	0,234	0,152	0,150	0,170	0,278	0,157	0,171	<b>0,17</b>	0,03
<b>T<sub>1/2</sub><math>\beta</math></b> (h)	4,200	2,962	4,559	4,620	4,076	2,493	4,414	4,053	<b>4,13</b>	0,56
<b>AUC</b> ( $\mu\text{g/ml/h}$ )	10.172	5.865	16.897	17.566	7.507	7.682	8.747	8.402	<b>10.74</b>	4.63
<b>K<sub>10</sub></b> (h-1)	0,861	1,405	0,440	0,569	1,269	24,931	1,105	1,279	<b>0,99</b>	0,37
<b>K<sub>21</sub></b> (h-1)	5,372	8,495	7,942	9,223	3,616	5,178	4,010	6,061	<b>6,39</b>	2,21
<b>K<sub>31</sub></b> (h-1)	0,430	0,513	0,618	0,730	0,271	0,443	0,307	0,340	<b>0,46</b>	0,17
<b>K<sub>12</sub></b> (h-1)	4,786	5,167	4,814	11,204	5,150	78,441	4,452	6,348	<b>5,99</b>	2,38
<b>K<sub>13</sub></b> (h-1)	0,876	1,222	0,596	0,904	0,504	12,014	0,734	0,913	<b>0,82</b>	0,24
<b>K<sub>12</sub>/K<sub>21</sub></b>	0,891	0,608	0,606	1,215	1,424	15,14	1,110	1,047	<b>0,99</b>	0,31
<b>K<sub>13</sub>/K<sub>31</sub></b>	2,035	2,381	0,964	1,239	1,857	27,119	2,389	2,685	<b>1,94</b>	0,63
<b>Vc</b> (L/Kg)	0,285	0,303	0,336	0,250	0,262	0,013	0,259	0,233	<b>0,28</b>	0,04
<b>Vd<sub>ss</sub></b> (L/Kg)	1,120	1,210	0,864	0,864	1,123	0,565	1,163	1,101	<b>1,06</b>	0,14

A, B y P: intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición;  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$ : constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación;  $t_{1/2\alpha}$ , vida media de distribución rápida inicial,  $t_{1/2\pi}$ , vida media de distribución lenta,  $t_{1/2\beta}$ , vida media de eliminación;  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{31}$ ,  $k_{13}$ , constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y los compartimientos periféricos;  $k_{10}$ , constante de eliminación del compartimiento central;  $V_c$ , volumen aparente del compartimiento central;  $Cl_{total}$ : aclaramiento total;  $Cl_2$ , aclaramiento del compartimiento periférico superficial;  $Cl_3$ , aclaramiento del compartimiento periférico profundo;  $V_{ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario.

**Tabla XXX:** Discriminación de modelos según el método de los mínimos cuadrados, la correlación de Pearson, y el criterio de información de Akaike (AIC), para la enrofloxacina luego de su inyección intravenosa a ovinos a una dosis de 2.5 mg/kg. Se utilizaron 4 ponderaciones de los datos.

<b>BICOMPARTIMENTAL</b>									
		<b>Peso 1</b>				<b>1 sobre concentración</b>			
	<b>SC</b>	<b>weightedSC</b>	<b>R-squared</b>	<b>AIC</b>	<b>SC</b>	<b>weightedSC</b>	<b>R-squared</b>	<b>AIC</b>	
ANIMAL 1	0,280	0,280	0,996	-12,344	0,572	0,277	0,990	-12,547	
ANIMAL 2	0,161	0,161	0,997	-21,203	0,370	0,213	0,993	-16,775	
ANIMAL 3	0,491	0,491	0,988	-3,375	0,714	0,278	0,983	-12,507	
ANIMAL 4	0,509	0,509	0,988	-2,810	0,655	0,310	0,984	-10,756	
ANIMAL 5	0,059	0,059	0,999	-37,246	0,103	0,127	0,998	-25,031	
ANIMAL 6	0,629	0,629	0,991	0,590	0,689	0,251	0,990	-14,096	
ANIMAL 7	0,187	0,187	0,998	-18,839	0,354	0,233	0,995	-15,295	
ANIMAL 8	0,253	0,253	0,998	-13,998	0,566	0,403	0,993	-6,555	
<b>Media</b>	<b>0,321</b>	<b>0,321</b>	<b>0,994</b>	<b>-13,653</b>	<b>0,503</b>	<b>0,261</b>	<b>0,991</b>	<b>-14,195</b>	
<b>DE</b>	0,199	0,199	0,005	12,355	0,211	0,079	0,005	5,359	
<b>CV</b>	62,018	62,018	0,465	-90,489	41,878	30,391	0,522	-37,754	
		<b>1/ raiz</b>				<b>1 sobre cuadrado concentracion</b>			
	<b>SC</b>	<b>weightedSC</b>	<b>R-squared</b>	<b>AIC</b>	<b>SC</b>	<b>weightedSC</b>	<b>R-squared</b>	<b>AIC</b>	
ANIMAL 1	0,332	0,284	0,994	-12,135	3,793	0,163	0,947	-21,065	
ANIMAL 2	0,204	0,179	0,996	-19,557	3,467	0,306	0,950	-10,925	
ANIMAL 3	0,524	0,374	0,987	-7,748	1,858	0,090	0,957	-30,614	
ANIMAL 4	0,537	0,405	0,987	-6,460	2,516	0,141	0,944	-23,314	
ANIMAL 5	0,066	0,080	0,999	-32,334	1,523	0,321	0,981	-10,204	
ANIMAL 6	0,640	0,338	0,991	-9,362	2,083	0,257	0,976	-13,712	
ANIMAL 7	0,215	0,195	0,997	-18,156	3,670	0,307	0,958	-10,905	
NIMAL 8	0,297	0,310	0,997	-10,738	9,266	0,350	0,907	-8,786	
<b>Media</b>	<b>0,352</b>	<b>0,271</b>	<b>0,994</b>	<b>-14,561</b>	<b>3,522</b>	<b>0,242</b>	<b>0,953</b>	<b>-16,191</b>	
<b>DE</b>	0,197	0,110	0,005	8,564	2,477	0,097	0,023	7,883	
<b>CV</b>	56,114	40,799	0,469	-58,811	70,327	40,205	2,379	-48,689	

**Tabla XXXI:** Discriminación de modelos según el método de los mínimos cuadrados, la correlación de Pearson, y el criterio de información de Akaike (AIC), para la enrofloxacina luego de su inyección intravenosa a ovinos a una dosis de 2.5 mg/kg. Se utilizaron 4 ponderaciones de los datos.

TRICOMPARTIMENTAL												
		Peso 1				1 sobre concentración						
	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC
ANIMAL 1	0,015	0,015	1,000	-54,875	0,017	0,008	1,000	-65,856				
ANIMAL 2	0,027	0,027	1,000	-46,059	0,060	0,046	0,999	-37,426				
ANIMAL 3	0,158	0,158	0,996	-17,493	0,164	0,400	0,996	-39,521				
ANIMAL 4	0,117	0,117	0,997	-22,323	0,228	0,159	0,994	-17,420				
ANIMAL 5	0,023	0,023	1,000	-48,476	0,023	0,012	1,000	-58,589				
ANIMAL 6	0,248	0,248	0,996	-10,341	0,611	0,173	0,991	-16,089				
ANIMAL 7	0,088	0,088	0,999	-26,828	0,062	0,023	0,999	-48,013				
ANIMAL 8	0,251	0,251	0,997	-10,099	0,063	0,029	0,999	-44,863				
Media	<b>0,116</b>	<b>0,116</b>	<b>0,998</b>	<b>-29,562</b>	<b>0,153</b>	<b>0,106</b>	<b>0,997</b>	<b>-40,972</b>				
DE	0,096	0,096	0,002	17,826	0,198	0,135	0,003	17,659				
CV	83,215	83,131	0,181	-60,302	129,309	127,624	0,329	-43,099				
1/ raiz												
	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC
ANIMAL 1	0,016	0,011	1,000	-60,790	0,025	0,009	1,000	-62,596				
ANIMAL 2	0,028	0,035	0,999	-41,711	0,167	0,055	0,997	-34,406				
ANIMAL 3	0,160	0,078	0,996	-28,821	0,180	0,013	0,996	-57,251				
ANIMAL 4	0,119	0,093	0,997	-25,976	0,141	0,059	0,997	-33,294				
ANIMAL 5	0,023	0,015	1,000	-55,181	0,027	0,015	1,000	-54,789				
ANIMAL 6	0,609	0,302	0,991	-7,172	0,623	0,167	0,991	-16,596				
ANIMAL 7	0,057	0,034	0,999	-42,290	0,101	0,027	0,999	-45,809				
ANIMAL 8	0,060	0,038	0,999	-40,445	0,107	0,029	0,999	-44,764				
Media	<b>0,134</b>	<b>0,076</b>	<b>0,998</b>	<b>-37,798</b>	<b>0,171</b>	<b>0,047</b>	<b>0,997</b>	<b>-43,688</b>				
DE	0,198	0,096	0,003	17,036	0,191	0,052	0,003	15,112				
CV	148,086	126,734	0,303	-45,071	111,699	111,079	0,298	-34,590				

**Tabla XXXII.** Sumas de cuadrados de los residuales (estandarizados) de los datos obtenidos con respecto a los calculados por el modelo tricompartmental, para la enrofloxacin luego de la administración intravenosa. Se muestran las cuatro ponderaciones utilizadas:  $X$ ,  $1/X$ ,  $1/\sqrt{X}$ , y  $1/X^2$ , donde  $X$  son las concentraciones plasmáticas a los distintos tiempos luego de la administración de la droga.

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8	Media
<b>X</b>	0,2098	0,0215	-0,7609	-0,0859	-0,6286	0,0182	0,0283	-0,0101	<b>-0,1510</b>
	-0,3318	-0,0118	1,9760	0,2164	1,3830	-0,9267	0,1374	0,3235	<b>0,3458</b>
	-0,6003	-0,3282	-2,0280	0,0315	-1,1950	1,4860	-1,1000	-1,1420	<b>-0,6095</b>
	1,7990	1,2680	-0,1956	-0,7130	0,9999	0,2490	1,2260	0,5080	<b>0,6427</b>
	-0,7633	-1,5080	0,8214	-0,8228	-1,4580	-1,1830	-0,5774	1,1170	<b>-0,5468</b>
	0,7546	0,5629	0,0520	0,7082	0,8728	1,4120	0,2741	0,5420	<b>0,6473</b>
	-1,7430	0,3483	0,1539	1,2100	-0,1381	-1,4370	0,4021	-0,7788	<b>-0,2478</b>
	-0,0695	-0,4163	0,4601	0,3773	0,6643	-0,1384	0,0477	-0,3967	<b>0,0661</b>
	0,5889	-0,6218	-0,1551	-0,2225	0,1949	0,4190	0,1102	-0,8803	<b>-0,0708</b>
	0,8578	1,1070	-0,3792	-0,6537	-1,2270	0,7099	-1,1390	-0,4630	<b>-0,1484</b>
	-0,3433	0,5022	-0,1771	-1,4210	0,2319	-0,5365	-1,0070	0,4704	<b>-0,2851</b>
	-0,4976	-1,1020	-0,0814	0,0967	0,4396	-0,4600	-0,0119	0,5769	<b>-0,1300</b>
	0,0528	-0,7451	0,1488	1,5220	0,1558	-0,0054	0,7156	1,0690	<b>0,3642</b>
	-0,1322	-0,0848	0,2878	0,9354	-0,2216	0,2037	0,7347	1,0330	<b>0,3445</b>
	-0,3457	0,9043	0,1861	-0,9081	-0,1968	0,3874	1,0910	1,0410	<b>0,2699</b>
	0,6807	0,9696	-0,3233	-0,3594	0,1152	0,1571	1,4580	1,0900	<b>0,4735</b>
	<b>Suma cuadrados</b>	<b>9,9970</b>	<b>10,0006</b>	<b>9,9973</b>	<b>9,9993</b>	<b>9,9995</b>	<b>10,0019</b>	<b>9,9968</b>	<b>9,9974</b>
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8	Media
<b>1/X</b>	0,8739	1,3940	-1,8160	0,2337	-1,1530	3,0160	1,5210	-0,3938	<b>0,4595</b>
	-1,0980	-1,1090	4,4560	-0,4163	2,0670	-3,9390	-1,3890	1,3990	<b>-0,0037</b>
	-1,3030	-1,2590	-3,6680	0,1618	-1,3130	0,9888	-2,3810	-2,4350	<b>-1,4011</b>
	2,7650	1,2630	-0,4318	0,1368	1,5440	0,5629	3,5700	1,1390	<b>1,3186</b>
	-0,5152	-0,1644	1,4130	0,1425	-1,9800	-0,7187	-0,0369	2,1730	<b>0,0392</b>
	1,5060	1,2080	-0,0807	1,0950	1,0830	2,3670	-0,0580	0,6191	<b>0,9674</b>
	-2,4080	0,2277	0,2786	1,0960	-0,2997	-1,4330	-0,7689	-2,3770	<b>-0,7105</b>
	-0,5626	-1,2590	1,1130	-0,2047	0,8874	-0,4611	-0,9008	0,2313	<b>-0,1446</b>
	0,3026	-1,1080	-0,0171	-1,0360	0,3233	0,2085	1,1610	-0,5981	<b>-0,0955</b>
	0,9474	0,9337	-0,5224	-1,3370	-0,1606	0,8805	-0,2901	0,1557	<b>0,0759</b>
	-0,2286	1,1660	-0,3518	-1,4440	0,3649	-0,2885	-0,3163	1,0340	<b>-0,0080</b>
	-0,2773	-0,2069	-0,3228	0,3980	0,6107	-0,2874	0,3293	-0,2773	<b>-0,0042</b>
	0,4232	-0,3275	0,0935	1,9340	0,2016	0,0596	0,5132	0,2088	<b>0,3883</b>
	-0,0090	-0,1884	0,4175	1,5080	-0,3172	0,1409	-0,3282	-0,3351	<b>0,1111</b>
	-0,6523	0,1385	0,4261	-0,4062	-0,2575	0,1940	-0,4038	-0,2840	<b>-0,1557</b>
	0,4355	0,0702	-0,3692	-0,5721	0,2001	-0,0945	0,3342	0,3296	<b>0,0417</b>
	<b>Suma cuadrados</b>	<b>21,8734</b>	<b>13,1453</b>	<b>41,1160</b>	<b>14,3464</b>	<b>16,5644</b>	<b>35,3464</b>	<b>26,3506</b>	<b>22,0209</b>

Tabla XXXII (cont.)

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8	Media
<b>1/√X</b>	0,4788	0,1675	-1,1820	-0,1377	-0,9276	2,2200	0,8339	-0,5043	<b>0,1186</b>
	-0,6683	-0,2682	3,0160	0,3201	1,8210	-3,0330	-0,9609	1,4370	<b>0,2080</b>
	-0,8796	-0,3097	-2,7400	0,0057	-1,2960	0,7162	-1,6440	-2,0750	<b>-1,0278</b>
	2,3030	1,3290	-0,2822	-0,8809	1,2960	0,4101	3,0580	0,7770	<b>1,0013</b>
	-0,6566	-1,0910	1,0950	-0,9878	-1,8330	-0,5492	-0,1881	1,5920	<b>-0,3273</b>
	1,0750	0,4430	0,0048	0,8039	0,9771	1,7920	-0,3414	0,3541	<b>0,6386</b>
	-2,1240	0,0494	0,2050	1,4260	-0,2403	-1,0920	-0,8429	-2,0710	<b>-0,5862</b>
	-0,3360	-0,6121	0,7236	0,5484	0,8413	-0,3861	-0,7048	0,4280	<b>0,0628</b>
	0,4698	-0,4465	-0,1174	-0,1343	0,3272	0,0933	1,1700	-0,2460	<b>0,1395</b>
	0,9530	1,2920	-0,4576	-0,6689	-1,4260	0,6038	-0,0623	0,3122	<b>0,0683</b>
	-0,2279	0,7593	-0,2553	-1,6190	0,3111	-0,2440	-0,2504	0,8461	<b>-0,0850</b>
	-0,3557	-0,8548	-0,1798	0,0561	0,5139	-0,2142	0,1753	-0,4022	<b>-0,1577</b>
	0,2362	-0,7246	0,1323	1,6800	0,1451	0,0579	0,3023	0,0231	<b>0,2315</b>
	-0,1001	-0,2587	0,3492	1,0700	-0,3120	0,1156	-0,3724	-0,3946	<b>0,0121</b>
	-0,5630	0,5360	0,2892	-0,8934	-0,2300	0,1351	-0,3261	-0,2061	<b>-0,1573</b>
	0,5514	0,6197	-0,3464	-0,2062	0,2046	-0,1000	0,3828	0,4384	<b>0,1930</b>
<b>Suma cuadrados</b>	<b>14,9586</b>	<b>8,1649</b>	<b>20,5090</b>	<b>12,7514</b>	<b>15,3304</b>	<b>20,1867</b>	<b>16,9811</b>	<b>15,7873</b>	<b>15,5837</b>
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8	Media
<b>1/X<sup>2</sup></b>	2,1580	3,6730	-3,9320	-0,5284	-0,2337	3,3070	3,2010	1,4050	<b>1,1312</b>
	-1,6620	-1,0460	8,4570	0,7854	1,3290	-3,5440	-1,7890	0,2413	<b>0,3465</b>
	-2,1290	-2,7630	-6,0370	-0,1582	-1,8700	1,5470	-3,6120	-3,6470	<b>-2,3337</b>
	2,4260	-0,1138	-1,0400	-1,5260	1,3510	0,9737	2,6980	1,3690	<b>0,7672</b>
	0,0842	-0,6068	1,9730	-1,5820	-1,2090	-0,5258	0,1668	3,3180	<b>0,2023</b>
	2,1500	1,8460	-0,4447	1,0090	1,8920	2,2970	0,9429	2,0480	<b>1,4675</b>
	-1,6930	1,2820	0,4704	2,0490	0,4890	-1,6740	0,2318	-1,4270	<b>-0,0340</b>
	-0,6487	-0,5506	2,2970	1,1830	0,9399	-0,5547	-0,5669	0,2061	<b>0,2881</b>
	-0,1945	-1,1940	0,4722	0,2991	-0,0949	0,4134	0,7021	-1,2500	<b>-0,1058</b>
	0,4504	0,4187	-0,5081	-0,5511	-1,9590	1,1750	-0,8209	-0,5540	<b>-0,2936</b>
	-0,2476	0,8164	-0,5667	-2,0510	-0,0260	-0,1533	-0,6092	0,7283	<b>-0,2636</b>
	-0,7060	-0,1626	-0,7498	-0,0352	0,4876	-0,2914	0,3202	-0,2041	<b>-0,1677</b>
	0,5997	-0,1462	-0,0881	2,0570	0,3142	0,0116	0,6745	0,4458	<b>0,4836</b>
	0,1445	-0,0106	0,5268	1,3970	-0,0837	0,1002	-0,0725	-0,0897	<b>0,2390</b>
	-0,6433	0,1594	0,7695	-0,8615	-0,1417	0,2100	-0,2978	-0,2338	<b>-0,1299</b>
	0,3065	-0,0456	-0,3977	0,1337	0,0583	-0,0439	0,1665	0,1422	<b>0,0400</b>
<b>Suma cuadrados</b>	<b>27,4427</b>	<b>30,2976</b>	<b>136,4965</b>	<b>23,9124</b>	<b>17,5212</b>	<b>37,2163</b>	<b>37,2817</b>	<b>37,2124</b>	<b>43,4226</b>

**Tabla XXXIII:** Parámetros farmacocinéticos de enrofloxacina administrada en forma intravenosa a una dosis de 2.5 mg/kg Calculados con el paquete informático ADAPT II

<b>PARAMETROS</b>	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>	<b>Animal 8</b>	<b>MEDIA</b>	<b>DE</b>
<b>A</b> (µg/ml)	4,922	3,848	3,396	5,244	6,599	4,217	6,178	6,648	<b>5,13</b>	<b>1,26</b>
<b>alfa</b> (h-1)	11,560	11,710	15,930	18,410	9,628	4,257	9,653	12,900	<b>11,76</b>	<b>4,28</b>
<b>T<sub>1/2</sub> alfa</b> (h)	0,060	0,059	0,044	0,038	0,072	0,163	0,072	0,054	<b>0,07</b>	<b>0,04</b>
<b>P</b> (µg/ml)	2,860	3,068	2,709	1,988	2,401	2,620	2,762	3,545	<b>2,74</b>	<b>0,46</b>
<b>pi</b> (h-1)	1,038	1,650	0,767	0,932	0,704	0,789	0,887	1,000	<b>0,97</b>	<b>0,30</b>
<b>T<sub>1/2</sub> pi</b> (h)	0,668	0,420	0,904	0,743	0,984	0,879	0,782	0,693	<b>0,76</b>	<b>0,17</b>
<b>B</b> (µg/ml)	1,054	0,924	1,587	2,043	0,545	0,337	0,777	0,607	<b>0,98</b>	<b>0,57</b>
<b>B</b> (h-1)	0,151	0,268	0,110	0,129	0,169	0,163	0,160	0,138	<b>0,16</b>	<b>0,05</b>
<b>T<sub>1/2</sub>β</b> (h)	4,599	2,586	6,329	5,355	4,091	4,262	4,342	5,022	<b>4,57</b>	<b>1,08</b>
<b>K<sub>10</sub></b>	0,864	1,391	0,414	0,510	1,306	1,123	1,127	1,276	<b>1,00</b>	<b>0,37</b>
<b>K<sub>21</sub></b>	5,562	6,638	7,665	8,307	3,398	2,191	3,992	5,512	<b>5,41</b>	<b>2,12</b>
<b>K<sub>31</sub></b>	0,367	0,560	0,334	0,524	0,259	0,221	0,303	0,253	<b>0,35</b>	<b>0,13</b>
<b>K<sub>12</sub></b>	5,067	3,989	5,646	9,412	5,079	1,364	4,573	6,189	<b>5,16</b>	<b>2,25</b>
<b>K<sub>13</sub></b>	0,849	1,041	0,470	0,705	0,458	0,311	0,700	0,818	<b>0,67</b>	<b>0,24</b>
<b>K<sub>12</sub>/K<sub>21</sub></b>	0,911	0,601	0,737	1,133	1,495	0,623	1,146	1,123	<b>0,97</b>	<b>0,31</b>
<b>K<sub>13</sub>/K<sub>31</sub></b>	2,312	1,860	1,408	1,345	1,771	1,410	2,308	3,233	<b>1,96</b>	<b>0,64</b>
<b>Vc</b>	0,283	0,319	0,332	0,270	0,261	0,349	0,257	0,231	<b>0,29</b>	<b>0,04</b>
<b>Vp2</b>	0,258	0,192	0,244	0,305	0,390	0,217	0,295	0,260	<b>0,27</b>	<b>0,06</b>
<b>Vp3</b>	0,655	0,593	0,467	0,363	0,462	0,491	0,594	0,748	<b>0,55</b>	<b>0,12</b>
<b>Vd<sub>ss</sub></b>	1,195	1,104	1,044	0,939	1,113	1,058	1,144	1,237	<b>1,10</b>	<b>0,09</b>
<b>Clb</b>	0,245	0,444	0,137	0,137	0,341	0,391	0,290	0,295	<b>0,29</b>	<b>0,11</b>
<b>Cl2</b>	1,434	1,272	1,873	2,538	1,324	0,475	1,177	1,432	<b>1,44</b>	<b>0,59</b>
<b>Cl3</b>	0,240	0,332	0,156	0,190	0,120	0,109	0,180	0,189	<b>0,19</b>	<b>0,07</b>

A, B y P: intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición;  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$ : constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación;  $t_{1/2\alpha}$ : vida media de distribución rápida inicial,  $t_{1/2\pi}$ : vida media de distribución lenta,  $t_{1/2\beta}$ : vida media de eliminación;  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{31}$ ,  $k_{13}$ , constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y los compartimientos periféricos;  $k_{10}$ , constante de eliminación del compartimiento central;  $V_c$ , volumen aparente del compartimiento central;  $V_{p2}$ , volumen aparente del compartimiento periférico superficial;  $V_{p3}$ , volumen aparente del compartimiento periférico profundo;  $V_{ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario.  $Cl_b$ , aclaramiento plasmático total;  $Cl_2$ , aclaramiento del compartimiento periférico superficial;  $Cl_3$ , aclaramiento del compartimiento periférico profundo



**Tabla XXXIV.** Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacina administrada en forma intramuscular a ovejas, a una dosis de 2.5 mg/kg, calculados con el paquete informático PKCAL

<b>PARAMETROS</b>	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>	<b>Animal 8</b>	<b>media</b>	<b>DE</b>
<b>ABC<sub>0-t</sub></b> (µg·h/ml)	3,89	4,26	9,29	3,47	6,73	4,24	9,47	12,67	<b>6,75</b>	<b>3,39</b>
<b>ABC<sub>0-∞</sub></b> (µg·h/ml)	4,02	4,48	12,12	3,66	7,19	4,58	10,14	14,42	<b>7,58</b>	<b>4,15</b>
<b>ABCM<sub>0-t</sub></b> (µg·h·h/m)	7,42	11,43	34,04	7,73	19,56	7,69	27,09	40,63	<b>19,45</b>	<b>13,12</b>
<b>ABCM<sub>0-∞</sub></b> (µg·h·h/m)	8,70	14,28	82,27	9,79	25,79	10,49	36,24	66,64	<b>31,78</b>	<b>28,27</b>
<b>Cl</b> (mL/h/Kg)	0,56	0,50	0,19	0,61	0,31	0,49	0,22	0,16	<b>0,38</b>	<b>0,18</b>
<b>Vd<sub>ss</sub></b> (L/kg)	1,59	0,91	0,33	1,43	0,44	1,33	0,32	0,06	<b>0,80</b>	<b>0,59</b>
<b>TMR</b> (h)	2,83	1,81	1,79	2,32	1,41	2,71	1,43	0,38	<b>1,83</b>	<b>0,80</b>
<b>t1/2β</b> (h)	1,59	2,24	4,86	1,88	2,51	1,60	2,53	3,33	<b>2,57</b>	<b>1,09</b>
<b>β</b> (h <sup>-1</sup> )	1,102	1,552	3,368	1,303	1,739	1,108	1,753	2,304	<b>1,78</b>	<b>0,75</b>

ABC<sub>(0-t)</sub>: área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t; ABC<sub>(0-∞)</sub>: área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito; ABCM<sub>(0-t)</sub>: área bajo la curva en el primer momento a tiempo t; ABCM<sub>(0-∞)</sub>: área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; Cl: aclaramiento total; V<sub>ss</sub>, volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario; TMR: tiempo máximo de residencia; t<sub>1/2β</sub>: vida media de eliminación, β: constante híbrida de eliminación;

**Tabla XXXV.** Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intramuscular (calculados mediante ecuaciones)

<b>PARÁMETROS</b>	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>	<b>Animal 8</b>	<b>Media</b>	<b>Desvío</b>
<b>C<sub>max</sub></b> (µg/ml)	2,15	1,80	2,11	1,42	2,19	1,88	3,34	3,58	<b>2,31</b>	<b>0,76</b>
<b>T<sub>max</sub></b> (h)	0,25	0,25	1,00	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	<b>0,50</b>	<b>0,23</b>
<b>Const. tasa elimin.</b>	0,39	0,31	0,14	0,37	0,28	0,45	0,27	0,21	<b>0,30</b>	<b>0,10</b>
<b>Vida media</b> (h)	1,77	2,24	4,86	1,89	2,51	1,54	2,53	3,33	<b>2,58</b>	<b>1,08</b>
<b>ABC<sub>0-t</sub></b> (µg·h/ml)	4,04	4,26	9,29	3,47	6,73	4,44	9,47	12,67	<b>6,80</b>	<b>3,35</b>
<b>ABC<sub>0-∞</sub></b> (µg·h/ml)	4,17	4,59	12,24	3,69	7,20	4,55	10,31	14,73	<b>7,68</b>	<b>4,23</b>
<b>ABCM<sub>0-t</sub></b> (µg·h·h/m)	8,72	11,43	34,04	7,73	19,56	8,99	27,09	40,63	<b>19,77</b>	<b>12,79</b>
<b>ABCM<sub>0-∞</sub></b> (µg·h·h/m)	10,32	15,70	84,19	10,06	25,99	10,13	38,57	71,17	<b>33,27</b>	<b>29,33</b>
<b>Cl</b> (mL/h/Kg)	0,60	0,55	0,20	0,68	0,35	0,55	0,24	0,17	<b>0,42</b>	<b>0,20</b>
<b>TMR</b> (h)	2,48	3,42	6,88	2,73	3,61	2,23	3,74	4,83	<b>3,74</b>	<b>1,52</b>
<b>Vd<sub>ss</sub></b> (L/kg)	1,48	1,87	1,41	1,85	1,25	1,22	0,91	0,82	<b>1,35</b>	<b>0,39</b>

**C<sub>max</sub>** , concentración plasmática máxima; **T<sub>max</sub>** , tiempo de la **C<sub>max</sub>**; **ABC<sub>0-t</sub>** , área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t; **ABC<sub>0-∞</sub>** , área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito; **ABCM<sub>0-t</sub>** , área bajo la curva en el primer momento a tiempo t; **ABCM<sub>0-∞</sub>** , área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; **Cl**, aclaramiento total; **TMR** , tiempo máximo de residencia; **Vd<sub>ss</sub>**, volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario.

**Tabla XXXVI. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ciprofloxacina en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía intramuscular (calculados mediante ecuaciones)**

<b>PARÁMETROS</b>	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>	<b>Animal 8</b>	<b>Media</b>	<b>Desvío</b>
<b>C<sub>max</sub></b> (µg/ml)	0,18	0,20	0,24	0,16	0,22	0,21	0,26	0,22	<b>0,21</b>	0,03
<b>T<sub>max</sub></b> (h)	2,00	2,00	3,00	1,50	3,00	1,50	1,00	2,00	<b>2,00</b>	0,71
<b>Const. tasa eliminación</b>	0,05	0,05	0,02	0,06	0,02	0,10	0,10	0,11	<b>0,06</b>	0,04
<b>Vida media</b> (h)	14,18	13,66	32,67	10,88	35,99	6,72	6,77	6,60	<b>15,93</b>	11,79
<b>ABC<sub>0-t</sub></b> (µg·h/ml)	1,28	1,37	1,69	1,12	1,52	0,99	1,56	1,04	<b>1,32</b>	0,26
<b>ABC<sub>0-∞</sub></b> (µg·h/ml)	2,31	2,35	4,99	1,90	4,12	1,48	2,24	1,52	<b>2,61</b>	1,27
<b>ABCM<sub>0-t</sub></b> (µg·h·h/m)	5,69	5,93	7,78	4,81	6,98	3,28	6,39	3,42	<b>5,53</b>	1,61
<b>ABCM<sub>0-∞</sub></b> (µg·h·h/m)	36,83	35,19	196,30	24,98	167,76	11,85	19,90	11,76	<b>63,07</b>	74,40
<b>Cl</b> (mL/h/Kg)	1,08	1,06	0,50	1,31	0,61	1,69	1,12	1,65	<b>1,13</b>	0,43
<b>TMR</b> (h)	15,97	14,97	39,34	13,14	40,75	8,02	8,88	7,74	<b>18,60</b>	13,60

**C<sub>max</sub>** , concentración plasmática máxima; **T<sub>max</sub>** , tiempo de la **C<sub>max</sub>**; **ABC<sub>(0-t)</sub>** , área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t; **ABC<sub>(0-∞)</sub>** , área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito; **ABCM<sub>(0-t)</sub>** , área bajo la curva en el primer momento a tiempo t; **ABCM<sub>(0-∞)</sub>** , área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; **Cl**, aclaramiento total; **TMR** , tiempo máximo de residencia.



**Tabla XXXVIII:** Discriminación de modelos farmacocinéticos compartimentales , mediante la suma de los cuadrados (SC) de las desviaciones de las concentraciones plasmáticas estimados (CE) con respecto a las concentraciones plasmáticas reales (CR), y mediante el valor F, determinados por el programa de regresión lineal CSTRIP, para la enrofloxacin administrada por vía intramuscular, a una dosis de 2.5 mg/kg

**MODELO BICOMPARTIMENTAL (TRIEXPONENCIAL)**

Tiempo	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	CR	CE	CR	CE	CR	CE	CR	CE
0.125	1.5000	1.5000	1.50	1.50	0.94	0.74	0.89	0.88
0.25	2.1500	2.1500	1.80	1.80	1.34	1.25	1.27	1.27
0.5	1.8500	1.9446	1.57	1.55	1.67	1.82	1.42	1.42
1	1.3600	1.3327	1.06	1.12	2.11	2.04	1.12	1.13
1.5	0.9700	0.9298	0.92	0.85	1.82	1.83	0.87	0.83
2	0.7400	0.6665	0.67	0.68	1.67	1.57	0.61	0.63
3	0.3300	0.3758	0.52	0.48	0.99	1.18	0.42	0.40
4	0.2500	0.2400	0.36	0.36	0.95	0.95	0.29	0.27
5	0.1500	0.1700	0.29	0.28	0.81	0.80	0.19	0.19
6	0.1000	0.1290	0.16	0.22	0.67	0.69	0.14	0.14
8	0.1000	0.0824	0.12	0.13	0.48	0.52	0.08	0.08
10	0.0500	0.0553	0.10	0.08	0.42	0.40		
		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC
		<b>0.0205</b>		<b>0.0139</b>		<b>0.1251</b>		<b>0.0034</b>

**Valor F**  
**p**

7201.64966  
6.6146E-23

4890.89895  
8.1748E-22

16.3277694  
5.372E-06

207.546612  
6.4645E-13

Tiempo	Animal 5		Animal 6		Animal 7		Animal 8	
	CR	CE	CR	CE	CR	CE	CR	CE
0.125	1.39	1.36	1.25	1.28	2.12	2.05	1.74	1.61
0.25	2.03	1.95	1.78	1.77	3.03	2.98	2.49	2.63
0.5	2.19	2.20	1.88	1.89	3.34	3.35	3.58	3.56
1	1.90	1.84	1.64	1.49	2.72	2.61	3.32	3.44
1.5	1.46	1.46	1.16	1.13	1.91	1.94	2.74	2.71
2	1.18	1.18	0.85	0.87	1.52	1.51	2.27	2.09
3	0.70	0.82	0.42	0.53	1.03	1.06	1.39	1.38
4	0.54	0.61	0.38	0.33	0.80	0.81	1.07	1.07
5	0.44	0.47	0.21	0.21	0.64	0.64	0.91	0.89
6	0.35	0.36	0.15	0.13	0.48	0.52	0.77	0.76
8	0.27	0.23	0.05	0.06	0.32	0.33	0.53	0.58
10	0.13	0.14	0.05	0.06	0.23	0.22	0.43	0.44
		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC
		<b>0.0348</b>		<b>0.0390</b>		<b>0.0231</b>		<b>0.0885</b>

**Valor F**  
**p**

3237.97425  
1.1919E-20

8.9248377  
0.00016409

11316.7677  
3.5064E-24

214.412382  
5.2407E-13

**Tabla XXXIX.** Parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacina administrada por vía intramuscular, calculados a partir los datos surgidos del programa CSTRIP (intercepciones, por extrapolación, de las regresiones de cada una de las fases de la curva concentración plasmática-tiempo al tiempo cero A, B y P y constantes híbridas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\bar{\alpha}$ ) y las ecuaciones de Gibdd (1982), Baggot (1986) y Berrozpe-Plá Delfina (1997) para dos compartimentos.

<b>PARAMETROS</b>	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>	<b>Animal 8</b>	<b>MEDIA</b>	<b>DE</b>
<b>P</b> ( $\mu\text{g/mL}$ )	-2.8	0.014	-5.64	-0.239	-3.26	-2.8	-6.607	-14.46	<b>-4.47</b>	4.68
<b>K<sub>abs</sub></b> ( $\text{min}^{-1}$ )	12.64	16.24	2.03	4.98	5.39	6.18	4.52	2.26	<b>6.78</b>	5.04
<b>A</b> ( $\mu\text{g/mL}$ )	2,43	1,30	4,13	1,64	1,88	0,91	4,72	12,72	<b>3,72</b>	3,88
$\alpha$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0,91	1,25	1,04	1,05	0,91	1,17	1,40	1,31	<b>1,13</b>	0,18
$t_{1/2\alpha}$ (min)	0,76	0,55	0,67	0,66	0,76	0,59	0,50	0,53	<b>0,63</b>	0,10
<b>B</b> ( $\mu\text{g/mL}$ )	0,37	0,91	1,51	0,75	1,38	1,89	1,88	1,73	<b>1,30</b>	0,57
$\beta$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0,19	0,24	1,33	0,28	0,23	0,44	0,22	0,14	<b>0,38</b>	0,39
$t_{1/2\beta}$ (min)	3,65	2,89	0,52	2,48	3,01	1,57	3,21	5,06	<b>2,80</b>	1,35
<b>K<sub>10</sub></b> ( $\text{min}^{-1}$ )	0,61	0,46	1,10	0,56	0,40	0,55	0,55	0,65	<b>0,61</b>	0,21
<b>K<sub>21</sub></b> ( $\text{min}^{-1}$ )	0,28	0,66	1,25	0,52	0,52	0,93	0,55	0,28	<b>0,62</b>	0,33
<b>K<sub>12</sub></b> ( $\text{min}^{-1}$ )	0,21	0,38	0,01	0,24	0,22	0,12	0,51	0,52	<b>0,28</b>	0,18
<b>K<sub>12/K<sub>21</sub></sub></b>	0,73	0,57	0,01	0,47	0,42	0,13	0,93	1,88	<b>0,64</b>	0,58
<b>V<sub>c</sub></b> (L)	0,89	1,13	0,44	1,05	0,77	0,89	0,38	0,17	<b>0,72</b>	0,34
<b>V<sub>p</sub></b> (L)	0,65	0,65	0,004	0,49	0,32	0,12	0,35	0,32	<b>0,36</b>	0,23
<b>V<sub>d</sub></b> (área) (L)	2,86	2,16	0,37	2,11	1,35	1,12	0,96	0,82	<b>1,47</b>	0,83
<b>V<sub>d ss</sub></b> (L)	1,55	1,78	0,45	1,54	1,09	1,01	0,73	0,50	<b>1,08</b>	0,50
<b>CI</b> ( $\text{mL/h.kg}$ )	0,54	0,52	0,49	0,59	0,31	0,49	0,21	0,11	<b>0,41</b>	0,18

**A, B y P:** intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición;  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\pi$ : constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación;  $t_{1/2\alpha}$ , vida media de distribución rápida inicial,  $t_{1/2\pi}$  vida media de distribución lenta,  $t_{1/2\beta}$ , vida media de eliminación;  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ , constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y los compartimientos periféricos;  $k_{10}$ , constante de eliminación del compartimiento central;  $V_c$ , volumen aparente del compartimiento central;  $V_p$ , volumen aparente del compartimiento periférico;  $V_{dss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario;  $V_{d \text{ área}}$ , Volumen aparente de distribución área; **CI:** aclaramiento total; **ABC,** área bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo.

**Tabla XL:** Discriminación de modelos farmacocinéticos compartimentales , mediante la suma de los cuadrados de las desviaciones de datos sin ponderar (SC) y de datos ponderados (weightedSC), el coeficiente de correlación (R-squared), y el criterio de información de Akaike (AIC), para la enrofloxacin administrada por vía intramuscular, a una dosis de 2.5 mg/kg

**MODELO BICOMPARTIMENTAL**

	Peso 1			1 / concentración				
	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC
ANIMAL 1	0.039	0.039	0.994	-29.030	0.039	0.037	0.994	-29.487
ANIMAL 2	0.011	0.011	0.997	-44.294	0.014	0.038	0.997	-29.342
ANIMAL 3	0.116	0.116	0.967	-15.810	0.122	0.094	0.965	-18.329
ANIMAL 4	0.002	0.002	0.999	-56.388	0.002	0.004	0.999	-50.280
ANIMAL 5	0.014	0.014	0.998	-40.870	0.018	0.023	0.997	-35.059
ANIMAL 6	0.026	0.026	0.995	-30.258	0.029	0.041	0.994	-25.098
ANIMAL 7	0.012	0.012	0.999	-43.095	0.012	0.007	0.999	-49.727
ANIMAL 8	0.059	0.059	0.996	-26.787	0.059	0.030	0.996	-35.680
<b>Media</b>	<b>0.035</b>	<b>0.035</b>	<b>0.993</b>	<b>-35.817</b>	<b>0.037</b>	<b>0.034</b>	<b>0.993</b>	<b>-34.125</b>
DE	0.038	0.038	0.011	12.718	0.039	0.028	0.011	11.232
CV	107.663	107.662	1.078	-35.510	104.636	81.431	1.141	-32.914

	1 / raiz			1 / cuadrado concentración				
	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC
ANIMAL 1	0.039	0.034	0.994	-30.673	0.043	0.127	0.993	-14.747
ANIMAL 2	0.011	0.019	0.997	-37.536	0.088	0.132	0.982	-14.286
ANIMAL 3	0.118	0.104	0.966	-17.123	0.139	0.078	0.959	-20.563
ANIMAL 4	0.002	0.003	0.999	-53.650	0.003	0.009	0.999	-41.449
ANIMAL 5	0.015	0.017	0.997	-38.629	0.030	0.056	0.995	-24.591
ANIMAL 6	0.027	0.031	0.994	-28.306	0.041	0.099	0.992	-15.389
ANIMAL 7	0.012	0.009	0.999	-47.109	0.012	0.008	0.999	-48.315
ANIMAL 8	0.059	0.041	0.996	-31.517	0.061	0.019	0.996	-41.538
<b>Media</b>	<b>0.035</b>	<b>0.032</b>	<b>0.993</b>	<b>-35.568</b>	<b>0.052</b>	<b>0.066</b>	<b>0.989</b>	<b>-27.610</b>
DE	0.038	0.032	0.011	11.381	0.044	0.051	0.013	13.966
CV	106.972	98.643	1.106	-31.998	84.874	77.320	1.355	-50.583

Media SC **0.040**  
 Media weightedSC **0.042**  
 Media R-squared **0.992**  
 Media AIC **-33.280**

**Tabla XLI:** Discriminación de modelos farmacocinéticos compartimentales , mediante la suma de los cuadrados de las desviaciones de datos sin ponderar (SC) y de datos ponderados (weightedSC), el coeficiente de correlación (R-squared), y el criterio de información de Akaike (AIC), para la enrofloxacin administrada por vía intramuscular, a una dosis de 2.5 mg/kg

### MODELO MONOCOMPARTIMENTAL

	Peso 1				1 / concentración			
	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC
ANIMAL 1	0.080	0.080	0.990	-24.244	0.117	0.263	0.982	-10.041
ANIMAL 2	0.081	0.081	0.983	-24.185	0.123	0.156	0.972	-16.295
ANIMAL 3	0.189	0.189	0.947	-14.020	0.217	0.178	0.938	-14.717
ANIMAL 4	0.009	0.009	0.997	-45.315	0.014	0.037	0.994	-30.322
ANIMAL 5	0.077	0.077	0.989	-24.746	0.116	0.163	0.982	-15.761
ANIMAL 6	0.027	0.027	0.994	-30.110	0.028	0.058	0.994	-22.420
ANIMAL 7	0.271	0.271	0.983	-9.648	0.429	0.293	0.970	-8.735
ANIMAL 8	0.416	0.416	0.977	-5.391	0.620	0.454	0.961	-4.257
<b>Media</b>	<b>0.144</b>	<b>0.144</b>	<b>0.983</b>	<b>-22.207</b>	<b>0.208</b>	<b>0.200</b>	<b>0.974</b>	<b>-15.319</b>
DE	0.140	0.140	0.016	12.641	0.211	0.135	0.019	8.199
CV	97.119	97.119	1.601	-56.920	101.647	67.454	1.906	-53.525

	1 / raiz				1 / cuadrado concentración			
	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC
ANIMAL 1	0.086	0.129	0.987	-18.531	1.100	1.164	0.925	7.818
ANIMAL 2	0.091	0.109	0.978	-20.583	0.354	0.459	0.956	-3.344
ANIMAL 3	0.195	0.183	0.943	-14.373	0.327	0.165	0.923	-15.637
ANIMAL 4	0.010	0.018	0.995	-38.410	0.057	0.187	0.987	-12.438
ANIMAL 5	0.084	0.113	0.986	-20.139	0.415	0.277	0.963	-9.402
ANIMAL 6	0.027	0.033	0.994	-28.070	0.086	0.321	0.988	-5.351
ANIMAL 7	0.303	0.283	0.978	-9.153	1.306	0.290	0.943	-8.835
ANIMAL 8	0.452	0.436	0.971	-4.803	2.013	0.418	0.927	-5.354
<b>Media</b>	<b>0.156</b>	<b>0.163</b>	<b>0.979</b>	<b>-19.258</b>	<b>0.707</b>	<b>0.410</b>	<b>0.952</b>	<b>-6.568</b>
DE	0.153	0.138	0.017	10.572	0.695	0.321	0.027	7.073
CV	97.833	84.745	1.707	-54.900	98.244	78.216	2.790	-107.692

**Media SC** 0.304  
**Media weightedSC** 0.229  
**Media R-squared** 0.972  
**Media AIC** -15.838



**Tabla XLII.** Sumas de cuadrados de los residuales (estandarizados) de los datos obtenidos con respecto a los calculados por el modelo bicompartimental, para la enrofloxacin luego de la administración intramuscular. Se muestran las cuatro ponderaciones utilizadas:  $X$ ,  $1/X$ ,  $1/\sqrt{X}$ , y  $1/X^2$ , donde  $X$  son las concentraciones plasmáticas a los distintos tiempos luego de la administración de la droga.

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8	Media
<b>X</b>	-1,1150	-1,1460	1,2720	-0,4043	0,9647	0,4508	0,5092	1,2570	<b>0,2236</b>
	1,8300	1,6770	0,3034	0,0025	-1,0330	0,2346	-0,0696	-1,6200	<b>0,1656</b>
	-1,1200	-1,1440	-1,4740	1,0320	0,6372	-1,3510	-0,9653	1,0190	<b>-0,4208</b>
	-0,1017	0,4040	0,5667	-1,2310	-0,3661	1,1790	1,8050	-0,6787	<b>0,1972</b>
	0,1454	0,5617	-0,0237	-0,6059	-0,1474	0,1700	-1,3110	-0,0516	<b>-0,1578</b>
	0,7152	-0,4929	0,8211	1,4480	-0,5285	0,1089	-0,2850	0,9979	<b>0,3481</b>
	-0,7333	-0,0879	-1,3430	-0,3572	1,1120	-0,9536	-0,1174	-0,8946	<b>-0,4219</b>
	0,0234	-0,3590	0,2709	0,4529	0,9548	-0,3513	0,4425	-0,2265	<b>0,1510</b>
	0,1955	-0,1548	0,4026	-0,4254	-0,1978	0,1428	0,4998	0,4190	<b>0,1102</b>
	-0,0687	0,1644	0,1437	-0,3931	-1,5830	0,6574	-0,4911	0,4001	<b>-0,1463</b>
	0,1447	0,4929	-0,2456	0,3519	-0,3361		-0,3007	-0,3213	<b>-0,0306</b>
	-0,0949	0,6431	0,0246		0,3459		0,1908	-0,0759	<b>0,1723</b>
					0,4829			-0,0636	<b>0,2097</b>
<b>Suma cuadrados</b>	<b>7,0007</b>	<b>7,0002</b>	<b>6,9993</b>	<b>5,9997</b>	<b>7,7646</b>	<b>4,9996</b>	<b>7,0813</b>	<b>7,9981</b>	<b>6,8554</b>

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8	Media
<b>1/X</b>	-0,8895	-1,0160	1,1380	-0,4211	0,9395	0,7691	0,5876	1,6930	<b>0,3501</b>
	2,1270	2,7960	0,0015	0,1736	-0,7491	0,1814	-0,2581	-2,3980	<b>0,2343</b>
	-1,3670	-1,0920	-1,8280	1,2890	0,4380	-2,0000	-1,4260	1,3130	<b>-0,5841</b>
	-0,1147	-0,6368	0,8075	-1,0310	-0,7062	0,7408	2,4940	-0,9451	<b>0,0761</b>
	0,2653	0,3888	0,2617	-0,7756	-0,4702	0,4595	-1,5280	0,0512	<b>-0,1684</b>
	0,9187	-0,0471	1,1600	0,9578	-0,5659	0,7158	0,0995	1,5650	<b>0,6005</b>
	-0,7220	0,5849	-1,3950	-0,3904	1,2270	-0,4058	-0,1840	-1,1590	<b>-0,3055</b>
	0,0563	-0,0541	0,3077	0,5513	1,2820	-0,2104	0,4988	-0,3037	<b>0,2660</b>
	0,2125	-0,2089	0,4230	-0,1198	0,3215	-0,0695	0,5942	0,5567	<b>0,2137</b>
	-0,0912	-0,1353	0,1359	-0,1569	-0,9307	0,1961	-0,6689	0,5183	<b>-0,1416</b>
	0,1548	-0,0175	-0,2623	0,0550	-0,1704		-0,3451	-0,4698	<b>-0,1508</b>
	-0,0835	0,1370	0,0767		0,1431		0,3359	-0,0827	<b>0,0878</b>
					0,0731			0,1450	<b>0,1091</b>
<b>Suma cuadrados</b>	<b>8,7204</b>	<b>11,0273</b>	<b>9,0156</b>	<b>4,9492</b>	<b>6,8438</b>	<b>6,1489</b>	<b>12,3252</b>	<b>15,9273</b>	<b>9,3697</b>



**Tabla XLIII:** Parámetros farmacocinéticos para la enrofloxacina administrada en forma intramuscular a una dosis de 2,5 mg/kg, calculados con el paquete informático ADAPT II

PARAMETROS	animal 1	animal 2	animal 3	animal 4	animal 5	animal 6	animal 7	animal 8	Media	DE
<b>A</b> (µg/mL)	2,24	1,36	2,12	1,20	2,07	1,52	3,63	4,72	<b>2,36</b>	1,22
<b>α</b> (min <sup>-1</sup> )	0,79	2,29	0,67	1,11	0,78	0,87	1,21	0,83	<b>1,07</b>	0,52
<b>T<sub>1/2α</sub></b> (h)	0,87	0,30	1,04	0,63	0,89	0,79	0,57	0,83	<b>0,74</b>	0,23
<b>B</b> (µg/mL)	0,14	1,04	0,90	0,75	0,72	0,67	1,41	1,19	<b>0,85</b>	0,38
<b>β</b> (min <sup>-1</sup> )	0,10	0,30	0,10	0,31	0,17	0,34	0,20	0,12	<b>0,21</b>	0,10
<b>T<sub>1/2β</sub></b> (h)	6,62	2,28	7,09	2,25	4,11	2,06	3,39	5,81	<b>4,20</b>	2,05
<b>K<sub>abs</sub></b> (min <sup>-1</sup> )	8,13	9,04	2,60	5,10	5,35	5,27	4,84	2,99	<b>5,41</b>	2,23
<b>K<sub>10</sub></b> (min <sup>-1</sup> )	0,56	0,54	0,22	0,53	0,39	0,57	0,46	0,33	<b>0,45</b>	0,13
<b>K<sub>21</sub></b> (min <sup>-1</sup> )	0,15	1,29	0,30	0,65	0,34	0,52	0,54	0,30	<b>0,51</b>	0,35
<b>K<sub>12</sub></b> (min <sup>-1</sup> )	0,19	0,76	0,25	0,24	0,22	0,12	0,41	0,32	<b>0,32</b>	0,20
<b>K<sub>12</sub>/K<sub>21</sub></b>	1,28	0,59	0,82	0,37	0,65	0,19	0,77	1,08	<b>0,72</b>	0,35
<b>V<sub>c</sub></b> (L/Kg)	0,96	1,02	0,85	1,26	0,84	1,10	0,51	0,46	<b>0,88</b>	0,28
<b>V<sub>p</sub></b> (L/Kg)	1,23	0,60	0,70	0,47	0,54	0,26	0,39	0,49	<b>0,59</b>	0,29
<b>V<sub>d(ss)</sub></b> (L/Kg)	2,19	1,63	1,55	1,73	1,39	1,36	0,90	0,95	<b>1,46</b>	0,42
<b>Cl</b> (mL/h.kg)	0,54	0,55	0,18	0,66	0,32	0,62	0,23	0,15	<b>0,41</b>	0,21

**A** y **B**, intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición;  $\alpha$  y  $\beta$ , constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación;  $t_{1/2\alpha}$ , vida media de distribución;  $t_{1/2\beta}$ , vida media de eliminación;  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ , constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y los compartimientos periféricos;  $k_{10}$ , constante de eliminación del compartimiento central;  $V_c$ , volumen aparente del compartimiento central;  $V_p$ , volumen aparente del compartimiento periférico;  $V_{d,ss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario;  $Cl$ , aclaramiento plasmático total.

**Tabla XLIV:** biodisponibilidad de la enrofloxacin administrada en forma intramuscular, calculada con los áreas bajo la curva de concentraciones plasmáticas en el tiempo para las vías intravenosas e intramusculares, para los datos ponderados con la pesada 1 / raíz de concentración

**INTRAVENOSO**

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8	Media	Desvío
<b>AUC<sub>t</sub></b>	8,39	5,18	13,11	13,63	6,45	5,77	7,36	7,06	<b>8,37</b>	3,24
<b>AUC<sub>inf</sub></b>	9,14	5,33	15,42	16,22	6,70	5,92	7,79	7,46	<b>9,25</b>	4,22

**INTRAMUSCULAR**

<b>AUC<sub>t</sub></b>	4,02	4,26	9,33	3,47	6,68	4,43	9,48	12,69	<b>6,80</b>	3,36
<b>AUC<sub>inf</sub></b>	4,17	4,44	12,30	3,68	7,28	4,58	10,28	14,80	<b>7,69</b>	4,26

**AUC<sub>t</sub> im / AUC<sub>t</sub> iv 0,81**

**AUC<sub>inf</sub> im / AUC<sub>inf</sub> iv 0,83**

**AUC<sub>t</sub> im:** Area bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo, del tiempo cero al tiempo t, para la vía intramuscular; **AUC<sub>t</sub> iv:** Area bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo, del tiempo cero al tiempo t, para la vía intravenosa; **AUC<sub>inf</sub> im:** Area bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo, del tiempo cero al tiempo infinito, para la vía intramuscular; **AUC<sub>inf</sub> iv:** Area bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo, del tiempo cero al tiempo infinito, para la vía intravenosa.



**Tabla XLVI:** parámetros farmacocinéticos no compartimentales de enrofloxacin en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía subcutánea (calculados mediante ecuaciones)

<b>PARÁMETROS</b>	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>	<b>Animal 8</b>	<b>Media</b>	<b>Desvío</b>
<b>C<sub>max</sub></b> (µg/ml)	1,71	1,72	2,00	1,98	1,89	2,08	2,31	2,43	<b>2,02</b>	0,26
<b>T<sub>max</sub></b> (h)	1,00	0,50	1,00	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	<b>0,63</b>	0,23
<b>Const. tasa eliminación</b>	0,36	0,40	0,40	0,24	0,40	0,27	0,26	0,28	<b>0,32</b>	0,07
<b>Vida media</b> (h)	1,95	1,74	1,74	2,95	1,73	2,57	2,65	2,52	<b>2,23</b>	0,49
<b>ABC<sub>0-t</sub></b> (µg·h/ml)	4,80	4,25	4,52	5,29	4,16	5,88	6,78	7,60	<b>5,41</b>	1,25
<b>ABC<sub>0-∞</sub></b> (µg·h/ml)	5,13	4,50	4,77	5,80	4,41	6,25	7,20	8,00	<b>5,76</b>	1,31
<b>ABCM<sub>0-t</sub></b> (µg·h·h/m)	11,35	9,37	9,99	17,89	9,13	18,33	22,06	24,09	<b>15,28</b>	6,05
<b>ABCM<sub>0-∞</sub></b> (µg·h·h/m)	15,00	12,00	12,64	26,19	11,75	24,15	28,73	30,34	<b>20,10</b>	8,01
<b>Cl</b> (mL/h/Kg)	0,49	0,56	0,52	0,43	0,57	0,40	0,35	0,31	<b>0,45</b>	0,10
<b>TMR</b> (h)	2,92	2,67	2,65	4,51	2,67	3,87	3,99	3,79	<b>3,38</b>	0,74
<b>Vd<sub>ss</sub></b> (L/Kg)	1,42	1,48	1,39	1,94	1,51	1,55	1,39	1,19	<b>1,48</b>	0,22

**C<sub>max</sub>** , concentración plasmática máxima; **T<sub>max</sub>** , tiempo de la **C<sub>max</sub>**; **ABC<sub>0-t</sub>** , área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t; **ABC<sub>0-∞</sub>** , área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito; **ABCM<sub>0-t</sub>** , área bajo la curva en el primer momento a tiempo t; **ABCM<sub>0-∞</sub>** , área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; **Cl**, aclaramiento total; **TMR** , tiempo máximo de residencia; **Vd<sub>ss</sub>**, volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario.

**Tabla XLVII:** Parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ciprofloxacina en ovejas dosificadas con 2.5 mg/kg de enrofloxacin por vía subcutánea (calculados mediante ecuaciones)

<b>PARÁMETROS</b>	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>	<b>Animal 8</b>	<b>Media</b>	<b>Desvío</b>
<b>C<sub>max</sub></b> (µg/ml)	0,19	0,24	0,22	0,21	0,19	0,22	0,23	0,21	<b>0,21</b>	0,02
<b>T<sub>max</sub></b> (h)	1,50	0,50	1,00	0,50	1,00	0,50	1,50	0,50	<b>0,88</b>	0,44
<b>Const. tasa eliminación</b>	0,04	0,07	0,12	0,06	0,04	0,09	0,04	0,07	<b>0,07</b>	0,03
<b>Vida media</b> (h)	16,23	9,28	5,94	12,30	17,77	8,13	16,02	9,73	<b>11,92</b>	4,34
<b>ABC<sub>0-t</sub></b> (µg·h/ml)	0,85	0,98	0,74	0,84	0,84	0,77	0,87	0,86	<b>0,84</b>	0,07
<b>ABC<sub>0-∞</sub></b> (µg·h/ml)	3,29	2,34	1,63	2,73	3,46	2,13	3,25	2,44	<b>2,66</b>	0,64
<b>ABCM<sub>0-t</sub></b> (µg·h·h/m)	2,38	2,65	1,65	2,38	2,38	1,76	2,42	2,38	<b>2,25</b>	0,35
<b>ABCM<sub>0-∞</sub></b> (µg·h·h/m)	74,14	29,04	13,72	47,19	85,43	24,47	71,71	34,05	<b>47,47</b>	26,53
<b>Cl</b> (mL/h/Kg)	0,76	1,07	1,53	0,92	0,72	1,18	0,77	1,02	<b>1,00</b>	0,27
<b>TMR</b> (h)	22,54	12,40	8,41	17,29	24,67	11,51	22,08	13,95	<b>16,61</b>	5,96

**C<sub>max</sub>** , concentración plasmática máxima; **T<sub>max</sub>** , tiempo de la **C<sub>max</sub>**; **ABC<sub>0-t</sub>** , área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo t; **ABC<sub>0-∞</sub>** , área bajo la curva del tiempo 0 a tiempo infinito; **ABCM<sub>0-t</sub>** , área bajo la curva en el primer momento a tiempo t; **ABCM<sub>0-∞</sub>** , área bajo la curva en el primer momento a tiempo infinito; **Cl**, aclaramiento total; **TMR** , tiempo máximo de residencia.





**Tabla XLIX:** Discriminación de modelos farmacocinéticos compartimentales, mediante la suma de los cuadrados (SC) de las desviaciones de las concentraciones plasmáticas estimadas (CE) con respecto a las concentraciones plasmáticas reales (CR), mediante el valor F, determinados por el programa de regresión lineal CSTRIP, para la enrofloxacin administrada por vía subcutánea, a una dosis de 2.5 mg/kg.

**BICOMPARTIMENTAL TRIEXPONENCIAL**

Tiempo	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	CR	CE	CR	CE	CR	CE	CR	CE
0.25	1.0300	1.0522	1.22	1.25	1.05	1.08	1.26	1.26
0.5	1.4900	1.4842	1.72	1.69	1.50	1.49	1.98	1.98
1	1.7100	1.5734	1.60	1.61	2.00	1.52	1.50	1.51
1.5	1.6100	1.3519	1.22	1.22	1.34	1.27	1.16	1.12
2	1.0700	1.1031	0.95	0.88	0.94	1.00	0.87	0.86
3	0.5800	0.7209	0.49	0.49	0.55	0.61	0.52	0.55
4	0.3700	0.4819	0.31	0.31	0.37	0.38	0.40	0.39
5	0.2600	0.3309	0.22	0.22	0.25	0.23	0.31	0.31
6	0.2100	0.2322	0.14	0.16	0.12	0.14	0.24	0.26
8	0.1200	0.1192	0.10	0.10	0.05	0.06	0.19	0.20
10							0.16	0.15
							0.12	0.12
		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC
		0.1248		0.0070		0.2463		0.0030
<b>Valor F</b>		<b>9.47338038</b>		<b>7412.57528</b>		<b>35.7230022</b>		<b>32463.9346</b>
<b>p</b>		<b>0.00011864</b>		<b>5.4832E-23</b>		<b>4.6781E-08</b>		<b>3.7172E-27</b>

Tiempo	Animal 5		Animal 6		Animal 7		Animal 8	
	CR	CE	CR	CE	CR	CE	CR	CE
0.25	1.01	1.01	1.56	1.56	1.61	1.61	1.86	1.86
0.5	1.89	1.89	2.08	2.08	2.31	2.31	2.43	2.43
1	1.53	1.53	1.90	1.76	1.83	1.86	2.05	2.04
1.5	1.18	1.18	1.28	1.31	1.51	1.48	1.62	1.62
2	0.78	0.91	1.02	0.99	1.14	1.19	1.30	1.33
3	0.57	0.55	0.63	0.63	0.81	0.81	1.06	0.96
4	0.36	0.33	0.44	0.46	0.57	0.58	0.71	0.72
5	0.16	0.20	0.29	0.36	0.46	0.43	0.54	0.55
6	0.10	0.12	0.35	0.29	0.33	0.34	0.35	0.42
8	0.05	0.04	0.15	0.19	0.22	0.22	0.20	0.25
10			0.13	0.13	0.15	0.15	0.15	0.15
			0.10	0.09	0.11	0.11	0.11	0.09
		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC		SumatoriaSC
		0.0207		0.0328		0.0057		0.0205
<b>Valor F</b>		<b>661.972526</b>		<b>3560.00597</b>		<b>12739.6865</b>		<b>2699.31895</b>
<b>p</b>		<b>3.5636E-16</b>		<b>6.4374E-21</b>		<b>1.6239E-24</b>		<b>3.8866E-20</b>
								<b>1.4836E-05</b>
								<b>Media</b>
								<b>7447.83627</b>
								<b>3.8866E-20</b>

**Tabla L.** Parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin administrada por vía subcutánea, calculados a partir los datos surgidos del programa CSTRIP (intercepciones, por extrapolación, de las regresiones de cada una de las fases de la curva concentración plasmática-tiempo al tiempo cero A, B y P y constantes híbridas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\bar{\alpha}$ ) y las ecuaciones de Gibdd (1982), Boggot (1986) y Berrozpe-Plá Delfina (1997) para dos compartimentos.

PARAMETROS	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8	MEDIA	DE
<b>P</b> ( $\mu\text{g/mL}$ )	-3,09	-6,12	-2,86	-2,65	-2,35	-3,70	-2,81	-3,62	<b>-3,40</b>	1,19
<b>Kabs</b> ( $\text{min}^{-1}$ )	2,53	2,30	2,79	9,35	10,25	4,44	11,70	6,06	<b>6,18</b>	3,78
<b>A</b> ( $\mu\text{g/mL}$ )	1,77	5,41	3,17	2,17	0,20	2,86	2,11	1,66	<b>2,42</b>	1,50
<b>alfa</b> ( $\text{min}^{-1}$ )	0,73	1,18	0,66	0,83	0,82	1,01	0,62	1,30	<b>0,89</b>	0,25
<b>t<sub>2<math>\alpha</math></sub></b> (min)	0,94	0,59	1,05	0,84	0,85	0,68	1,12	0,53	<b>0,83</b>	0,21
<b>B</b> ( $\mu\text{g/mL}$ )	1,32	0,71	1,66	0,46	2,14	0,84	0,69	1,95	<b>1,22</b>	0,64
<b><math>\beta</math></b> ( $\text{min}^{-1}$ )	0,31	0,25	0,44	0,11	0,50	0,19	0,16	0,26	<b>0,28</b>	0,13
<b>t<sub>1/2<math>\beta</math></sub></b> (min)	2,27	2,78	1,58	6,16	1,39	3,71	4,33	2,67	<b>3,11</b>	1,58
<b>K<sub>10</sub></b> ( $\text{min}^{-1}$ )	0,46	0,82	0,56	0,39	0,52	0,50	0,36	0,41	<b>0,50</b>	0,15
<b>K<sub>21</sub></b> ( $\text{min}^{-1}$ )	0,49	0,36	0,51	0,24	0,79	0,38	0,27	0,82	<b>0,48</b>	0,22
<b>K<sub>12</sub></b> ( $\text{min}^{-1}$ )	0,09	0,25	0,02	0,31	0,01	0,32	0,14	0,33	<b>0,18</b>	0,13
<b>K<sub>12</sub> / K<sub>21</sub></b>	0,19	0,69	0,04	1,30	0,01	0,85	0,53	0,40	<b>0,50</b>	0,44
<b>V<sub>c</sub></b> (L/Kg)	0,81	0,41	0,52	0,95	1,07	0,68	0,89	0,69	<b>0,75</b>	0,22
<b>V<sub>p</sub></b> (L/Kg)	0,15	0,28	0,02	1,23	0,01	0,58	0,47	0,28	<b>0,38</b>	0,40
<b>Vd<sub>(área)</sub></b> (L/Kg)	1,22	1,35	0,66	3,29	1,11	1,83	2,03	1,10	<b>1,57</b>	0,82
<b>Vd<sub>ss</sub></b> (L/Kg)	0,96	0,69	0,54	2,18	1,08	1,26	1,36	0,97	<b>1,13</b>	0,50
<b>Cl</b> (mL/h.kg)	0,37	0,34	0,29	0,37	0,55	0,34	0,32	0,28	<b>0,36</b>	0,08

**A, B y P:** intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición; **K<sub>abs</sub>:** constante de absorción;  $\alpha$  y  $\beta$ : constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación; **t<sub>1/2 $\alpha$</sub>** , vida media de distribución; **t<sub>1/2 $\beta$</sub>** , vida media de eliminación; **k<sub>21</sub>**, **k<sub>12</sub>**, constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimiento central y los compartimientos periféricos; **k<sub>10</sub>**, constante de eliminación del compartimiento central; **V<sub>c</sub>**, volumen aparente del compartimiento central; **V<sub>p</sub>**, volumen aparente del compartimiento periférico; **Vd<sub>ss</sub>**, volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario; **Vd<sub>area</sub>**, Volumen aparente de distribución área; **Cl:** aclaramiento total.

**Tabla LI:** Discriminación de modelos farmacocinéticos compartimentales , mediante la suma de los cuadrados de las desviaciones de datos sin ponderar (SC) y de datos ponderados (weightedSC), el coeficiente de correlación (R-squared), y el criterio de información de Akaike (AIC), para la enrofloxacin administrada por vía subcutánea, a una dosis de 2.5 mg/kg

**MODELO BICOMPARTIMENTAL**

	Peso 1			1 / concentración				
	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC
ANIMAL 1	0.028	0.028	0.992	-25.617	0.032	0.026	0.991	-26.603
ANIMAL 2	0.005	0.005	0.999	-43.460	0.005	0.006	0.999	-41.509
ANIMAL 3	0.116	0.116	0.970	-11.521	0.131	0.087	0.968	-14.472
ANIMAL 4	0.060	0.060	0.986	-23.739	0.065	0.041	0.985	-28.373
ANIMAL 5	0.125	0.125	0.966	-10.829	0.137	0.114	0.964	-11.749
ANIMAL 6	0.021	0.021	0.996	-36.583	0.023	0.444	0.996	-27.365
ANIMAL 7	0.042	0.042	0.993	-28.138	0.047	0.027	0.992	-33.310
ANIMAL 8	0.025	0.025	0.997	-34.394	0.025	0.041	0.997	-28.194
<b>Media</b>	<b>0.053</b>	<b>0.053</b>	<b>0.987</b>	<b>-26.785</b>	<b>0.058</b>	<b>0.098</b>	<b>0.987</b>	<b>-26.447</b>
<b>DE</b>	0.045	0.045	0.013	11.539	0.050	0.144	0.013	9.569
<b>CV</b>	85.210	85.210	1.279	-43.079	86.033	146.875	1.359	-36.184

	1 / raiz			1 / cuadrado concentracion				
	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC
ANIMAL 1	0.029	0.027	0.991	-26.202	0.045	0.027	0.988	-26.174
ANIMAL 2	0.005	0.005	0.999	-43.253	0.006	0.014	0.998	-32.430
ANIMAL 3	0.120	0.099	0.970	-13.159	0.164	0.087	0.964	-14.452
ANIMAL 4	0.062	0.049	0.985	-26.151	0.077	0.033	0.984	-31.017
ANIMAL 5	0.128	0.117	0.965	-11.475	0.176	0.143	0.957	-9.475
ANIMAL 6	0.021	0.028	0.996	-32.698	0.045	0.128	0.993	-14.713
ANIMAL 7	0.043	0.033	0.993	-30.952	0.063	0.021	0.990	-33.224
ANIMAL 8	0.025	0.028	0.997	-32.853	0.062	0.036	0.992	-29.985
<b>Media</b>	<b>0.054</b>	<b>0.048</b>	<b>0.987</b>	<b>-27.093</b>	<b>0.080</b>	<b>0.061</b>	<b>0.983</b>	<b>-23.934</b>
<b>DE</b>	0.046	0.039	0.013	10.559	0.060	0.051	0.015	9.519
<b>CV</b>	85.795	80.731	1.301	-38.972	74.801	83.412	1.497	-39.772

**Media SC** **0.061**  
**Media weightedSC** **0.065**  
**Media R-squared** **0.986**  
**Media AIC** **-26.065**

**Tabla LI:** Discriminación de modelos farmacocinéticos compartimentales , mediante la suma de los cuadrados de las desviaciones de datos sin ponderar (SC) y de datos ponderados (weightedSC), el coeficiente de correlación (R-squared), y el criterio de información de Akaike (AIC), para la enrofloxacin administrada por vía subcutánea, a una dosis de 2.5 mg/kg

**MODELO MONOCOMPARTIMENTAL**

	Peso 1			1 / concentración				
	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC
ANIMAL 1	0.059	0.060	0.984	-22.292	0.083	0.115	0.977	-15.630
ANIMAL 2	0.018	0.018	0.995	-33.964	0.028	0.062	0.992	-21.867
ANIMAL 3	0.144	0.144	0.964	-13.396	0.172	0.113	0.958	-15.788
ANIMAL 4	0.181	0.181	0.965	-14.482	0.266	0.355	0.941	-6.435
ANIMAL 5	0.151	0.151	0.958	-12.889	0.168	0.131	0.956	-14.317
ANIMAL 6	0.117	0.117	0.981	-17.600	0.170	0.222	0.968	-10.538
ANIMAL 7	0.132	0.132	0.981	-18.266	0.190	0.170	0.971	-15.242
ANIMAL 8	0.058	0.058	0.993	-28.229	0.072	0.707	0.991	-25.791
<b>Media</b>	<b>0.108</b>	<b>0.108</b>	<b>0.978</b>	<b>-20.140</b>	<b>0.144</b>	<b>0.234</b>	<b>0.969</b>	<b>-15.701</b>
<b>DE</b>	0.056	0.056	0.014	7.571	0.077	0.211	0.018	6.029
<b>CV</b>	52.241	52.144	1.411	-37.590	53.562	90.021	1.810	-38.402

	1 / raiz			1 / cuadrado concentración				
	SC	weightedSC	R-squared	AIC	SC	weightedSC	R-squared	AIC
ANIMAL 1	0.064	0.080	0.982	-19.323	0.269	0.258	0.952	-7.537
ANIMAL 2	0.020	0.032	0.994	-28.480	0.132	0.260	0.979	-7.456
ANIMAL 3	0.152	0.128	0.961	-14.572	0.228	0.104	0.954	-16.657
ANIMAL 4	0.197	0.237	0.956	-11.259	1.072	0.811	0.870	3.488
ANIMAL 5	0.156	0.139	0.957	-13.744	0.220	0.196	0.955	-10.321
ANIMAL 6	0.128	0.155	0.976	-14.476	0.602	0.511	0.931	-1.395
ANIMAL 7	0.144	0.141	0.977	-17.507	0.561	0.297	0.946	-8.551
ANIMAL 8	0.061	0.056	0.992	-28.489	0.205	0.208	0.984	-12.835
<b>Media</b>	<b>0.115</b>	<b>0.121</b>	<b>0.974</b>	<b>-18.481</b>	<b>0.411</b>	<b>0.331</b>	<b>0.946</b>	<b>-7.658</b>
<b>DE</b>	0.060	0.065	0.015	6.630	0.318	0.227	0.035	6.315
<b>CV</b>	52.274	53.384	1.543	-35.875	77.306	68.513	3.728	-82.466

**Media SC** 0.194  
**Media weightedSC** 0.198  
**Media R-squared** 0.967  
**Media AIC** -15.495





**Tabla LIV.** Parámetros farmacocinéticos para la enrofloxacina administrada en forma subcutánea a una dosis de 2,5 mg/kg, calculados con el paquete informático ADAPT II

<b>PARAMETRO</b>	<b>animal 1</b>	<b>animal 2</b>	<b>animal 3</b>	<b>animal 4</b>	<b>animal 5</b>	<b>animal 6</b>	<b>animal 7</b>	<b>animal 8</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>
<b>A</b> (µg/mL)	4,24	2,55	3,68	2,95	2,62	3,48	2,79	2,83	<b>3,14</b>	0,60
<b>α</b> (min <sup>-1</sup> )	1,22	0,89	1,39	1,40	1,86	1,57	1,69	2,65	<b>1,58</b>	0,52
<b>T<sub>1/2α</sub></b> (h)	0,57	0,78	0,50	0,49	0,37	0,44	0,41	0,26	<b>0,48</b>	0,15
<b>B</b> (µg/mL)	0,29	0,38	0,70	0,60	1,24	0,85	1,34	2,02	<b>0,93</b>	0,58
<b>β</b> (min <sup>-1</sup> )	0,11	0,18	0,32	0,15	0,43	0,20	0,23	0,29	<b>0,24</b>	0,10
<b>T<sub>1/2β</sub></b> (h)	6,31	3,75	2,14	4,75	1,61	3,44	2,96	2,25	<b>3,40</b>	1,55
<b>K<sub>abs</sub></b> (min <sup>-1</sup> )	1,22	2,57	1,39	2,41	1,86	2,26	2,62	2,65	<b>2,12</b>	0,57
<b>K<sub>10</sub></b> (min <sup>-1</sup> )	0,74	0,59	0,91	0,57	0,90	0,67	0,56	0,60	<b>0,69</b>	0,14
<b>K<sub>21</sub></b> (min <sup>-1</sup> )	0,18	0,28	0,49	0,36	0,89	0,47	0,70	1,27	<b>0,58</b>	0,36
<b>K<sub>12</sub></b> (min <sup>-1</sup> )	0,41	0,20	0,31	0,62	0,50	0,63	0,65	1,07	<b>0,55</b>	0,27
<b>K<sub>12</sub>/K<sub>21</sub></b>	2,25	0,73	0,62	1,73	0,56	1,33	0,93	0,84	<b>1,12</b>	0,60
<b>V<sub>c</sub></b> (L/Kg)	0,55	0,85	0,57	0,70	0,65	0,58	0,61	0,52	<b>0,63</b>	0,11
<b>V<sub>p</sub></b> (L/Kg)	1,24	0,62	0,35	1,22	0,36	0,77	0,56	0,43	<b>0,70</b>	0,36
<b>V<sub>d(ss)</sub></b> (L/Kg)	1,79	1,48	0,93	1,92	1,01	1,35	1,17	0,95	<b>1,32</b>	0,38
<b>Cl</b> (mL/h.kg)	0,41	0,51	0,52	0,40	0,58	0,39	0,34	0,31	<b>0,43</b>	0,10

**A** y **B**, intersecciones al tiempo cero de la curva triexponencial de disposición;  $\alpha$  y  $\beta$ , constantes híbridas que representan las pendientes de las curvas de distribución y eliminación;  $t_{1/2\alpha}$ , vida media de distribución;  $t_{1/2\beta}$ , vida media de eliminación;  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ , constantes de primer orden para la transferencia entre el compartimento central y los compartimentos periféricos;  $k_{10}$ , constante de eliminación del compartimento central;  $V_c$ , volumen aparente del compartimento central;  $V_p$ , volumen aparente del compartimento periférico;  $V_{dss}$ , volumen aparente de distribución en estado de equilibrio estacionario; **Cl**, aclaramiento plasmático total.

**Tabla LV:** biodisponibilidad de la enrofloxacin administrada en forma subcutánea, calculada con los áreas bajo la curva de concentraciones plasmáticas en el tiempo para las vías intravenosa y subcutánea, para los datos ponderados con la pesada 1 / raíz de concentración

**INTRAVENOSO**

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8	Media	Desvío
<b>AUCt</b>	8,39	5,18	13,11	13,63	6,45	5,77	7,36	7,06	<b>8,37</b>	3,24
<b>AUCInf</b>	9,14	5,33	15,42	16,22	6,70	5,92	7,79	7,46	<b>9,25</b>	4,22

**SUBCUTÁNEO**

<b>AUCt</b>	4,80	4,25	4,44	5,27	4,01	5,86	6,77	7,58	<b>5,37</b>	1,27
<b>AUCInf</b>	5,19	4,49	4,60	5,74	4,12	6,16	7,09	7,82	<b>5,65</b>	1,31

**AUC<sub>t</sub> sc / AUC<sub>t</sub> iv 0,64**

**AUC<sub>Inf</sub> sc / AUC<sub>Inf</sub> iv 0,61**

AUC<sub>t</sub> sc: Area bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo, del tiempo cero al tiempo t, para la vía subcutánea; AUC<sub>t</sub> iv: Area bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo, del tiempo cero al tiempo t, para la vía intravenosa; AUC<sub>Inf</sub> sc: Area bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo, del tiempo cero al tiempo infinito, para la vía intravenosa; AUC<sub>Inf</sub> iv: Area bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo, del tiempo cero al tiempo infinito, para la vía intravenosa.



**Tabla LVI.** Comparación entre las concentraciones plasmáticas máximas de la enrofloxacin luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Kruskal-Wallis**

**Rangos**

Tratamiento		N	Rango promedio
Cmax	Endovenoso	8	20.50
	Intramuscular	8	9.25
	Subcutáneo	8	7.75
	Total	24	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Cmax
Chi-cuadrado	15.540
gl	2
Sig. asintót.	.000

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LVII.** Comparación entre las concentraciones plasmáticas máximas de la enrofloxacin luego de la administración intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Cmax	Intramuscular	8	9.25	74.00
	Subcutáneo	8	7.75	62.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Cmax
U de Mann-Whitney	26.000
W de Wilcoxon	62.000
Z	-.630
Sig. asintót. (bilateral)	.529
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.574 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LVIII.** Comparación entre las concentraciones plasmáticas máximas de la enrofloxacin luego de la administración intravenoso e intramuscular (salida de SPSS).

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Cmax	Endovenoso	8	12.50	100.00
	Intramuscular	8	4.50	36.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Cmax
U de Mann-Whitney	.000
W de Wilcoxon	36.000
Z	-3.361
Sig. asintót. (bilateral)	.001
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.000 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LIX.** Comparación entre las concentraciones plasmáticas máximas de la enrofloxacin luego de la administración intravenoso y subcutáneo (salida de SPSS).

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Cmax	Endovenoso	8	12.50	100.00
	Subcutáneo	8	4.50	36.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Cmax
U de Mann-Whitney	.000
W de Wilcoxon	36.000
Z	-3.361
Sig. asintót. (bilateral)	.001
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.000 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LX.** Comparación entre los tiempos a los cuales se alcanzaron las concentraciones plasmáticas máximas de la enrofloxacin luego de la administración intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

### Prueba de Mann-Whitney

#### Rangos

Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Tmax Intramuscular	8	7.25	58.00
Subcutáneo	8	9.75	78.00
Total	16		

#### Estadísticos de contraste<sup>b</sup>

	Tmax
U de Mann-Whitney	22.000
W de Wilcoxon	58.000
Z	-1.284
Sig. asintót. (bilateral)	.199
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.328 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXIa.** Comparación entre las constantes de absorción de enrofloxacin (calculadas por ADAPT II), luego de la administración intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Constante de Absorción	Intramuscular	8	12.25	98.00
	Subcutáneo	8	4.75	38.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Constante de Absorción
U de Mann-Whitney	2.000
W de Wilcoxon	38.000
Z	-3.151
Sig. asintót. (bilateral)	.002
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.001 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXIb.** Comparación entre las constantes de absorción de enrofloxacin (calculadas por CSTRIP), luego de la administración intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Constante de Absorción	Intramuscular	8	8.63	69.00
	Subcutáneo	8	8.38	67.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Constante de Absorción
U de Mann-Whitney	31.000
W de Wilcoxon	67.000
Z	-.105
Sig. asintót. (bilateral)	.916
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.959 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXII.** Comparación entre las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de enrofloxacin, de cero a tiempo y de cero a infinito, luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Kruskal-Wallis**

**ABC 0-tiempo**

**Rangos**

Tratamiento	N	Rango promedio
ABCcero-tiempo Endovenoso	8	16.50
Intramuscular	8	11.38
Subcutáneo	8	9.63
Total	24	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	ABCcero-tiempo
Chi-cuadrado	4.085
gl	2
Sig. asintót.	.130

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**ABC 0-infinito**

**Rangos**

Tratamiento	N	Rango promedio
ABCcero-infinito Endovenoso	8	16.50
Intramuscular	8	11.44
Subcutáneo	8	9.56
Total	24	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	ABCcero-infinito
Chi-cuadrado	4.123
gl	2
Sig. asintót.	.127

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXIII.** Comparación entre las semividas de distribución de enrofloxacin (calculadas por ADAPT II), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Kruskal-Wallis**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio
Semivida de distribución	Endovenoso	8	16.38
	Intramuscular	8	14.63
	Subcutáneo	8	6.50
	Total	24	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Semivida de distribución
Chi-cuadrado	8.897
gl	2
Sig. asintót.	.012

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXIV.** Comparación entre las semividas de distribución de enrofloxacin (calculadas por ADAPT II), luego de la administración intravenosa e intramuscular, intramuscular y subcutánea, e intravenosa y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Semivida de distribución	Endovenoso	8	9.19	73.50
	Intramuscular	8	7.81	62.50
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Semivida de distribución
U de Mann-Whitney	26.500
W de Wilcoxon	62.500
Z	-.578
Sig. asintót. (bilateral)	.563
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.574 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Semivida de distribución	Intramuscular	8	11.31	90.50
	Subcutáneo	8	5.69	45.50
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Semivida de distribución
U de Mann-Whitney	9.500
W de Wilcoxon	45.500
Z	-2.365
Sig. asintót. (bilateral)	.018
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.015

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Semivida de distribución	Endovenoso	8	11.69	93.50
	Subcutáneo	8	5.31	42.50
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Semivida de distribución
U de Mann-Whitney	6.500
W de Wilcoxon	42.500
Z	-2.680
Sig. asintót. (bilateral)	.007
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.005

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXV.** Comparación entre las microconstantes de intercambio entre los compartimientos de enrofloxacin (calculadas por ADAPT II), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

Prueba de Kruskal-Wallis

**Rangos**

Tratamiento	N	Rango promedio
k12/k21 Endovenoso	8	14.00
Intramuscular	8	9.25
Subcutáneo	8	14.25
Total	24	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	k12/k21
Chi-cuadrado	2.540
gl	2
Sig. asintót.	.281

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXVI.** Comparación entre las microconstantes de intercambio entre los compartimientos central y periférico superficial, y entre éste y el periférico profundo, de enrofloxacin (calculadas por ADAPT II), luego de la administración intravenosa (salida de SPSS).

Prueba de Mann-Whitney

**Rangos**

K sup y K prof	N	Rango promedio	Suma de rangos
k13/k31 y k12/k21 k12/k21	8	4.88	39.00
k13/k31	8	12.13	97.00
Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>a</sup>**

	k13/k31 y k12/k21
U de Mann-Whitney	3.000
W de Wilcoxon	39.000
Z	-3.046
Sig. asintót. (bilateral)	.002
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.001 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: K sup y K prof



**Tabla LXVII.** Comparación entre los volúmenes de distribución de la enrofloxacin (calculados por ADAPT II), luego de la administración intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Kruskal-Wallis**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio
Vdss	Endovenoso	8	9.38
	Intramuscular	8	15.31
	Subcutáneo	8	12.81
	Total	24	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Vdss
Chi-cuadrado	2.845
gl	2
Sig. asintót.	.241

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXVIII** Comparación entre las semividas de eliminación de enrofloxacin (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Kruskal-Wallis**

Rangos		
Tratamiento	N	Rango promedio
Semivida Eliminación Endovenoso	8	10.50
Intramuscular	8	14.13
Subcutáneo	8	12.88
Total	24	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Semivida Eliminación
Chi-cuadrado	1.085
gl	2
Sig. asintót.	.581

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXIX.** Comparación entre las semividas de eliminación de enrofloxacin (calculadas por CSTRIP), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Kruskal-Wallis**

Rangos		
Tratamiento	N	Rango promedio
Semivida eliminación CSTRIP Endovenoso	8	16.50
Intramuscular	8	10.25
Subcutáneo	8	10.75
Total	24	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Semivida eliminación CSTRIP
Chi-cuadrado	3.860
gl	2
Sig. asintót.	.145

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXX.** Comparación entre las semividas de eliminación de enrofloxacin (calculadas por ADAP II), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Kruskal-Wallis**

Rangos		
Tratamiento	N	Rango promedio
Semivida de eliminación Endovenoso	8	15.38
Intramuscular	8	12.69
Subcutáneo	8	9.44
Total	24	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Semivida de eliminación
Chi-cuadrado	2.830
gl	2
Sig. asintót.	.243

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXI.** Comparación entre los valores correspondientes al aclaramiento plasmático de la enrofloxacin (calculados por ADAPT II), luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente (salida de SPSS).

Rangos			
	Tratamiento	N	Rango promedio
Clearance total	Endovenoso	8	8.38
	Intramuscular	8	13.75
	Subcutáneo	8	15.38
	Total	24	

Estadísticos de contraste <sup>a,b</sup>		Clearance total
Chi-cuadrado	gl	4.297 2
Sig. asintót.		.117

a. Prueba de Kruskal-Wallis  
b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXII.** Comparación entre los valores correspondientes al aclaramiento plasmático de la enrofloxacin (calculados por ADAPT II), luego de la administración intravenosa, y subcutánea (salida de SPSS).

Rangos				
	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Clearance total	Endovenoso	8	5.75	46.00
	Subcutáneo	8	11.25	90.00
Total		16		

Estadísticos de contraste <sup>b</sup>		Clearance total
U de Mann-Whitney		10.000
W de Wilcoxon		46.000
Z		-2.312
Sig. asintót. (bilateral)		.021
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]		.021 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.  
b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXIII.** Comparación entre los valores correspondientes al aclaramiento plasmático de la enrofloxacin (calculados por ADAPT II), luego de la administración intravenosa y intramuscular (salida de SPSS).

Rangos				
	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Clearance total	Endovenoso	8	7.13	57.00
	Intramuscular	8	9.88	79.00
Total		16		

Estadísticos de contraste <sup>b</sup>		Clearance total
U de Mann-Whitney		21.000
W de Wilcoxon		57.000
Z		-1.156
Sig. asintót. (bilateral)		.248
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]		.279 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.  
b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXIV.** Comparación entre los valores correspondientes al aclaramiento plasmático de la enrofloxacin (calculados por ADAPT II), luego de la administración intramuscular y subcutánea (salida de SPSS).

Rangos				
	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Clearance total	Intramuscular	8	8.38	67.00
	Subcutáneo	8	8.63	69.00
Total		16		

Estadísticos de contraste <sup>b</sup>		Clearance total
U de Mann-Whitney		31.000
W de Wilcoxon		67.000
Z		-.105
Sig. asintót. (bilateral)		.916
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]		.959 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.  
b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXV.** Comparación entre las concentraciones plasmáticas máximas de la ciprofloxacina luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea de enrofloxacin, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Kruskal-Wallis**

Tratamiento		N	Rango promedio
Cmax	Endovenoso	7	18.86
	Intramuscular	8	9.06
	Subcutáneo	8	8.94
	Total	23	

	Cmax
Chi-cuadrado	10.400
gl	2
Sig. asintót.	.006

a. Prueba de Kruskal-Wallis  
b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXVI.** Comparación entre las concentraciones plasmáticas máximas de ciprofloxacina luego de la administración intravenosa e intramuscular de enrofloxacin, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Mann-Whitney**

Tratamiento		N	Rango promedio	Suma de rangos
Cmax	Endovenoso	7	11.14	78.00
	Intramuscular	8	5.25	42.00
	Total	15		

	Cmax
U de Mann-Whitney	6.000
W de Wilcoxon	42.000
Z	-2.555
Sig. asintót. (bilateral)	.011
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.009 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.  
b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXVII.** Comparación entre las concentraciones plasmáticas máximas de ciprofloxacina luego de la administración intravenosa y subcutánea de enrofloxacina, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Cmax	Endovenoso	7	11.71	82.00
	Subcutáneo	8	4.75	38.00
	Total	15		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Cmax
U de Mann-Whitney	.000
W de Wilcoxon	36.000
Z	-3.361
Sig. asintót. (bilateral)	.001
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.000 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXVIII.** Comparación entre las concentraciones plasmáticas máximas de ciprofloxacina luego de la administración intramuscular y subcutánea de enrofloxacina, respectivamente (salida de SPSS).

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Cmax	Intramuscular	8	8.31	66.50
	Subcutáneo	8	8.69	69.50
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Cmax
U de Mann-Whitney	30.500
W de Wilcoxon	66.500
Z	-.159
Sig. asintót. (bilateral)	.873
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.878 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXIX.** Comparación entre los tiempos a los cuales se alcanzaron las concentraciones plasmáticas máximas de ciprofloxacina luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente, de enrofloxacin, (salida de SPSS).

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio
Tmax	Endovenoso	7	13.50
	Intramuscular	8	16.56
	Subcutáneo	8	6.13
	Total	23	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Tmax
Chi-cuadrado	10.489
gl	2
Sig. asintót.	.005

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXX.** Comparación entre las las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacina, de cero a tiempo, luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente, de enrofloxacin (salida de SPSS).

Prueba de Kruskal-Wallis

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio
ABCcero-tiempo	Endovenoso	7	16.50
	Intramuscular	8	15.56
	Subcutáneo	8	4.50
	Total	23	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	ABCcero-t tiempo
Chi-cuadrado	15.101
gl	2
Sig. asintót.	.001

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXXI.** Comparación entre las las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacina, de cero a tiempo, luego de la administración intravenosa e intramuscular, respectivamente, de enrofloxacin (salida de SPSS).

Prueba de Mann-Whitney

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
ABCcero-tiempo	Endovenoso	7	8.50	59.50
	Intramuscular	8	7.56	60.50
	Total	15		

**Estadísticos de contraste**

	ABCcero-t tiempo
U de Mann-Whitney	24.500
W de Wilcoxon	60.500
Z	-.406
Sig. asintót. (bilateral)	.685
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.694 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXXII.** Comparación entre las las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacina, de cero a tiempo, luego de la administración intravenosa y subcutánea, respectivamente, de enrofloxacin (salida de SPSS).

Prueba de Mann-Whitney

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
ABCcero-tiempo	Endovenoso	7	12.00	84.00
	Subcutáneo	8	4.50	36.00
	Total	15		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	ABCcero-t tiempo
U de Mann-Whitney	.000
W de Wilcoxon	36.000
Z	-3.243
Sig. asintót. (bilateral)	.001
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.000 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXXIII.** Comparación entre las las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacina, de cero a tiempo, luego de la administración intramuscular y subcutánea, respectivamente, de enrofloxacin (salida de SPSS).

Prueba de Mann-Whitney

**Rangos**

Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
ABCcero-tiempo Intramuscular	8	12.50	100.00
Subcutáneo	8	4.50	36.00
Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	ABCcero-tiempo
U de Mann-Whitney	.000
W de Wilcoxon	36.000
Z	-3.363
Sig. asintót. (bilateral)	.001
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.000

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXXIV.** Comparación entre las las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacina, de cero a infinito, luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente, de enrofloxacin (salida de SPSS).

Prueba de Kruskal-Wallis

**Rangos**

Tratamiento	N	Rango promedio
ABCcero-infinito Endovenoso	7	11.00
Intramuscular	8	11.00
Subcutáneo	8	13.88
Total	23	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	ABCcero-infinito
Chi-cuadrado	.938
gl	2
Sig. asintót.	.626

- a. Prueba de Kruskal-Wallis
- b. Variable de agrupación: Tratamiento



**Tabla LXXXV.** Comparación entre las constantes de eliminación de ciprofloxacina luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente, de enrofloxacin (salida de SPSS).

Prueba de Kruskal-Wallis

**Rangos**

Tratamiento	N	Rango promedio
Cons. Tasa Elim. Endovenoso	7	12.43
Intramuscular	8	11.63
Subcutáneo	8	12.00
Total	23	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Cons. Tasa Elim.
Chi-cuadrado	.053
gl	2
Sig. asintót.	.974

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXXVI.** Comparación entre las semividas de eliminación de ciprofloxacina luego de la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, respectivamente, de enrofloxacin (salida de SPSS).

Prueba de Kruskal-Wallis

**Rangos**

Tratamiento	N	Rango promedio
Semivida Eliminación Endovenoso	7	11.57
Intramuscular	8	12.25
Subcutáneo	8	12.13
Total	23	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Semivida Eliminación
Chi-cuadrado	.042
gl	2
Sig. asintót.	.979

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXXVII.** Comparación entre las constantes de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intravenosa (salida de SPSS).

Prueba de Mann-Whitney

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Cons. Tasa Elim.	enrofloxacin	8	11.50	92.00
	ciprofloxacina	7	4.00	28.00
	Total	15		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Cons. Tasa Elim.
U de Mann-Whitney	.000
W de Wilcoxon	28.000
Z	-3.243
Sig. asintót. (bilateral)	.001
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.000 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXXVIII.** Comparación entre las constantes de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intramuscular (salida de SPSS).

Prueba de Mann-Whitney

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Cons. Tasa Elim.	enrofloxacin	8	12.50	100.00
	ciprofloxacina	8	4.50	36.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Cons. Tasa Elim.
U de Mann-Whitney	.000
W de Wilcoxon	36.000
Z	-3.368
Sig. asintót. (bilateral)	.001
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.000 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla LXXXIX.** Comparación entre las constantes de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración subcutánea (salida de SPSS).

Prueba de Mann-Whitney

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Cons. Tasa Elim.	enrofloxacin	8	12.50	100.00
	ciprofloxacina	8	4.50	36.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Cons. Tasa Elim.
U de Mann-Whitney	.000
W de Wilcoxon	36.000
Z	-3.383
Sig. asintót. (bilateral)	.001
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.000 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla XC.** Comparación entre las semividas de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intravenosa (salida de SPSS).

Prueba de Mann-Whitney

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Semivida Eliminación	enrofloxacin	8	4.50	36.00
	ciprofloxacina	7	12.00	84.00
	Total	15		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Semivida Eliminación
U de Mann-Whitney	.000
W de Wilcoxon	36.000
Z	-3.240
Sig. asintót. (bilateral)	.001
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.000 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla XCI.** Comparación entre las semividas de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración intramuscular (salida de SPSS).

Prueba de Mann-Whitney

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Semivida Eliminación	enrofloxacin	8	4.50	36.00
	ciprofloxacina	8	12.50	100.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Semivida Eliminación
U de Mann-Whitney	.000
W de Wilcoxon	36.000
Z	-3.361
Sig. asintót. (bilateral)	.001
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.000 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla XCII.** Comparación entre las semividas de eliminación de enrofloxacin y ciprofloxacina (calculadas con fórmulas clásicas), luego de la administración subcutánea (salida de SPSS).

Prueba de Mann-Whitney

**Rangos**

	Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
Semivida Eliminación	enrofloxacin	8	4.50	36.00
	ciprofloxacina	8	12.50	100.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Semivida Eliminación
U de Mann-Whitney	.000
W de Wilcoxon	36.000
Z	-3.363
Sig. asintót. (bilateral)	.001
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.000 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

**Tabla XCIII.** Comparaciones entre los distintos métodos utilizados para el cálculo de las semividas de eliminación de la enrofloxacin, luego de su administración por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea.

- 1: programa PKCALC
- 2: fórmulas clásicas
- 3: programa CSTRIP
- 4: programa ADAPT II

**Prueba de Kruskal-Wallis**

**A- Administración intravenosa**

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio
Intravenosa	1	8	9.13
	2	8	9.38
	3	8	21.75
	4	8	25.75
	Total	32	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Intravenosa
Chi-cuadrado	19.851
gl	3
Sig. asintót.	.000

- a. Prueba de Kruskal-Wallis
- b. Variable de agrupación: Método

**B- Administración intramuscular**

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio
Intramuscular	1	8	13.69
	2	8	13.69
	3	8	16.50
	4	8	22.13
	Total	32	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Intramuscular
Chi-cuadrado	4.319
gl	3
Sig. asintót.	.229

- a. Prueba de Kruskal-Wallis
- b. Variable de agrupación: Método

**C- Administración subcutánea**

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio
Subcutanea	1	8	10.44
	2	8	14.56
	3	8	19.13
	4	8	21.88
	Total	32	

**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Subcutanea
Chi-cuadrado	6.942
gl	3
Sig. asintót.	.074

- a. Prueba de Kruskal-Wallis
- b. Variable de agrupación: Método

**Tabla XCIV.** Comparación de dos métodos, PKCALC y fórmulas clásicas, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intravenosa

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intravenosa PKCALC	8	8.38	67.00
Formulas	8	8.63	69.00
Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Intravenosa
U de Mann-Whitney	31.000
W de Wilcoxon	67.000
Z	-.105
Sig. asintót. (bilateral)	.916
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.959 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Método

**Tabla XCV.** Comparación de dos métodos, PKCALC y fórmulas clásicas, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intramuscular

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intramuscula PKCALC	8	8.44	67.50
Formulas	8	8.56	68.50
Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Intramuscular
U de Mann-Whitney	31.500
W de Wilcoxon	67.500
Z	-.053
Sig. asintót. (bilateral)	.958
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.959 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Método

**Tabla XCVI.** Comparación de dos métodos, PKCALC y fórmulas clásicas, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía subcutanea

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Subcutanea: PKCALC	8	7.19	57.50
Formulas	8	9.81	78.50
Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Subcutanea
U de Mann-Whitney	21.500
W de Wilcoxon	57.500
Z	-1.107
Sig. asintót. (bilateral)	.268
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.279 <sup>a</sup>

- a. No corregidos para los empates.
- b. Variable de agrupación: Método

**Tabla XCVII.** Comparación de dos métodos, PKCALC y CSTRIP, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intravenosa

Rangos				
	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intravenosa	PKCALC	16	10.38	166.00
	CSTRIP	31	31.03	962.00
	Total	47		

Estadísticos de contraste <sup>a</sup>		Intravenosa
U de Mann-Whitney		30.000
W de Wilcoxon		166.000
Z		-4.908
Sig. asintót. (bilateral)		.000

a. Variable de agrupación: Método

**Tabla XCVIII.** Comparación de dos métodos, PKCALC y CSTRIP, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intravenosa

Rangos				
	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intramuscular	PKCALC	16	22.50	360.00
	CSTRIP	31	24.77	768.00
	Total	47		

Estadísticos de contraste <sup>a</sup>		Intramuscular
U de Mann-Whitney		224.000
W de Wilcoxon		360.000
Z		-.540
Sig. asintót. (bilateral)		.589

a. Variable de agrupación: Método

**Tabla XCIX.** Comparación de dos métodos, PKCALC y CSTRIP, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intravenosa

Rangos				
	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Subcutanea	PKCALC	16	17.38	278.00
	CSTRIP	31	27.42	850.00
	Total	47		

Estadísticos de contraste <sup>a</sup>		Subcutanea
U de Mann-Whitney		142.000
W de Wilcoxon		278.000
Z		-2.386
Sig. asintót. (bilateral)		.017

a. Variable de agrupación: Método

**Tabla C.** Comparación de dos métodos, PKCALC y ADAPT II, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intravenosa

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intravenosa	PKCALC	16	9.63	154.00
	ADAPT II	36	34.00	1224.00
	Total	52		

	Intravenosa
U de Mann-Whitney	18.000
W de Wilcoxon	154.000
Z	-5.268
Sig. asintót. (bilateral)	.000

a. Variable de agrupación: Método

**Tabla CI.** Comparación de dos métodos, PKCALC y ADAPT II, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intramuscular

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intramuscular	PKCALC	16	17.00	272.00
	ADAPT II	36	30.72	1106.00
	Total	52		

	Intramuscular
U de Mann-Whitney	136.000
W de Wilcoxon	272.000
Z	-3.023
Sig. asintót. (bilateral)	.003

a. Variable de agrupación: Método

**Tabla CII.** Comparación de dos métodos, PKCALC y ADAPT II, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía subcutánea

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Subcutanea	PKCALC	16	14.50	232.00
	ADAPT II	36	31.83	1146.00
	Total	52		

	Subcutanea
U de Mann-Whitney	96.000
W de Wilcoxon	232.000
Z	-3.818
Sig. asintót. (bilateral)	.000

a. Variable de agrupación: Método

**Tabla CIII.** Comparación de dos métodos, fórmulas clásicas y CSTRIP, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intravenosa

Prueba de Mann-Whitney

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intravenosa	Formulas	17	10.76	183.00
	CSTRIP	31	32.03	993.00
	Total	48		

**Estadísticos de contraste<sup>a</sup>**

	Intravenosa
U de Mann-Whitney	30.000
W de Wilcoxon	183.000
Z	-5.047
Sig. asintót. (bilateral)	.000

a. Variable de agrupación: Método

**Tabla CIV.** Comparación de dos métodos, fórmulas clásicas y CSTRIP, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intramuscular

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intramuscular	Formulas	17	22.47	382.00
	CSTRIP	31	25.61	794.00
	Total	48		

**Estadísticos de contraste<sup>a</sup>**

	Intramuscular
U de Mann-Whitney	229.000
W de Wilcoxon	382.000
Z	-.746
Sig. asintót. (bilateral)	.456

a. Variable de agrupación: Método

**Tabla CV.** Comparación de dos métodos, fórmulas clásicas y CSTRIP, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía subcutanea

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Subcutanea	Formulas	17	21.12	359.00
	CSTRIP	31	26.35	817.00
	Total	48		

**Estadísticos de contraste<sup>a</sup>**

	Subcutanea
U de Mann-Whitney	206.000
W de Wilcoxon	359.000
Z	-1.243
Sig. asintót. (bilateral)	.214

a. Variable de agrupación: Método



**Tabla CVI.** Comparación de dos métodos, fórmulas clásicas y ADAPT II, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intravenosa

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intravenosa	Formulas	8	4.75	38.00
	ADAPT II	8	12.25	98.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Intravenosa
U de Mann-Whitney	2.000
W de Wilcoxon	38.000
Z	-3.151
Sig. asintót. (bilateral)	.002
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.001

a. No corregidos para los empates.  
b. Variable de agrupación: Método

**Tabla CVII.** Comparación de dos métodos, fórmulas clásicas y ADAPT II, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intramuscular

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intramuscular	Formulas	8	6.38	51.00
	ADAPT II	8	10.63	85.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Intramuscular
U de Mann-Whitney	15.000
W de Wilcoxon	51.000
Z	-1.785
Sig. asintót. (bilateral)	.074
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.083 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.  
b. Variable de agrupación: Método

**Tabla CVIII.** Comparación de dos métodos, fórmulas clásicas y ADAPT II, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía subcutánea

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Subcutanea	Formulas	8	6.50	52.00
	ADAPT II	8	10.50	84.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Subcutanea
U de Mann-Whitney	16.000
W de Wilcoxon	52.000
Z	-1.682
Sig. asintót. (bilateral)	.093
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.105 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.  
b. Variable de agrupación: Método

**Tabla CIX.** Comparación de dos métodos, CSTRIP y ADAPT II, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intravenosa

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intravenosa	CSTRIP	8	6.75	54.00
	ADAPT II	8	10.25	82.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Intravenosa
U de Mann-Whitney	18.000
W de Wilcoxon	54.000
Z	-1.470
Sig. asintót. (bilateral)	.141
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.161 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.  
b. Variable de agrupación: Método

**Tabla CX.** Comparación de dos métodos, CSTRIP y ADAPT II, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía intramuscular

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Intramuscular	CSTRIP	8	7.13	57.00
	ADAPT II	8	9.88	79.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Intramuscular
U de Mann-Whitney	21.000
W de Wilcoxon	57.000
Z	-1.155
Sig. asintót. (bilateral)	.248
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.279 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.  
b. Variable de agrupación: Método

**Tabla CXI.** Comparación de dos métodos, CSTRIP y ADAPT II, empleados para el cálculo de la semivida de eliminación de la enrofloxacin administrada por vía subcutánea

**Prueba de Mann-Whitney**

**Rangos**

	Método	N	Rango promedio	Suma de rangos
Subcutanea	CSTRIP	8	7.88	63.00
	ADAPT II	8	9.13	73.00
	Total	16		

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	Subcutanea
U de Mann-Whitney	27.000
W de Wilcoxon	63.000
Z	-.525
Sig. asintót. (bilateral)	.600
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.645 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.  
b. Variable de agrupación: Método